

Introducción a técnicas de registro de Actividad Neuronal



Y ejemplos preliminares de utilización de teoría de información para el análisis de la Actividad Neuronal.

Introduction

- Diversas técnicas de extracción de datos en Neurociencia:

- Técnicas morfológicas
- Técnicas electro-fisiológicas
- Técnicas ópticas, fluorescencia
- Técnicas combinadas
- Técnicas psico-físicas, EEG, RM

Técnicas Morfológicas

- Morfología neuronal
- Marcaje neuronal
- Para movimiento neuronal en bulbo olfatorio BO:
 - Por ejemplo la migración de células mitrales en el BO,
- Para desarrollo cerebral
- Estudio de la conectividad (incluso con marcaje)
- Estudio de la de la funcionalidad (RMN,PET)
- Análisis de la direccionalidad de la información

Técnicas Morfológicas

- Microscopía: óptica, contraste de fase, electrónica, polarización e interferencia, fluorescencia
- Diversas técnicas de preparación:
- Fijación (química, congelación, etc)
- Corte (lo mas habitual [micrótopo](#))
- Tinción para visualización

MRI y FMRI

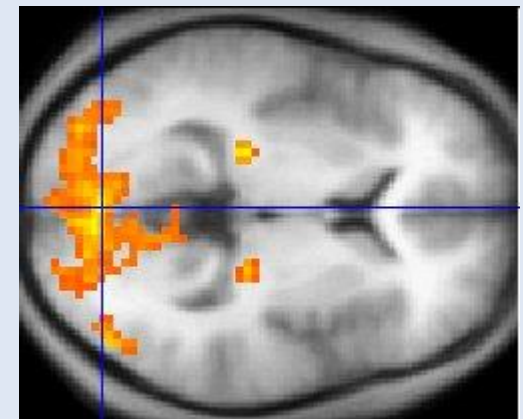
- Técnica no invasiva que utiliza el fenómeno físico de resonancia magnética para obtener información de la estructura y composición del cuerpo a analizar.
- Utiliza grandes campos magnéticos para alinear la magnetización nuclear (spin de los protones y neutrones, es un dipolo magnético) de normalmente los átomos de hidrógeno del agua del cuerpo de estudio.
- Se utilizan campos de radiofrecuencia (a una frecuencia de resonancia) para cambiar el alineamiento de esa magnetización.
- Así se genera un campo magnético rotacional detectable por la máquina de MRI. Esta se puede ser manipulada con otros campos magnéticos y así construir información del cuerpo.

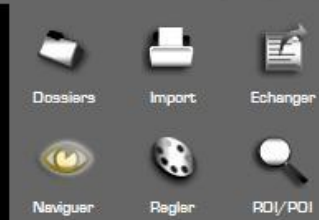
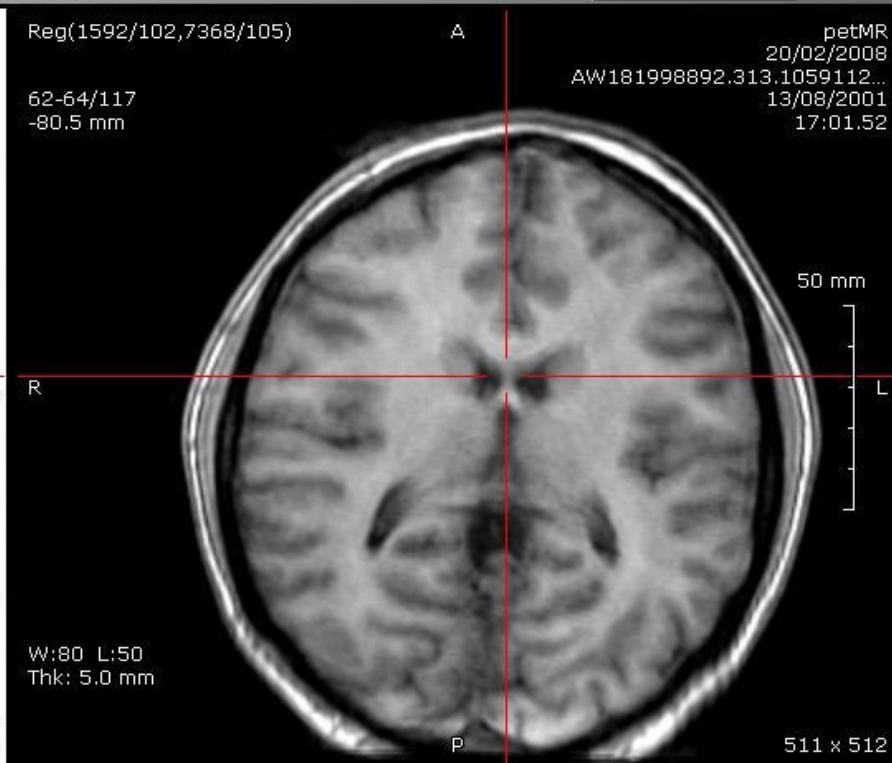
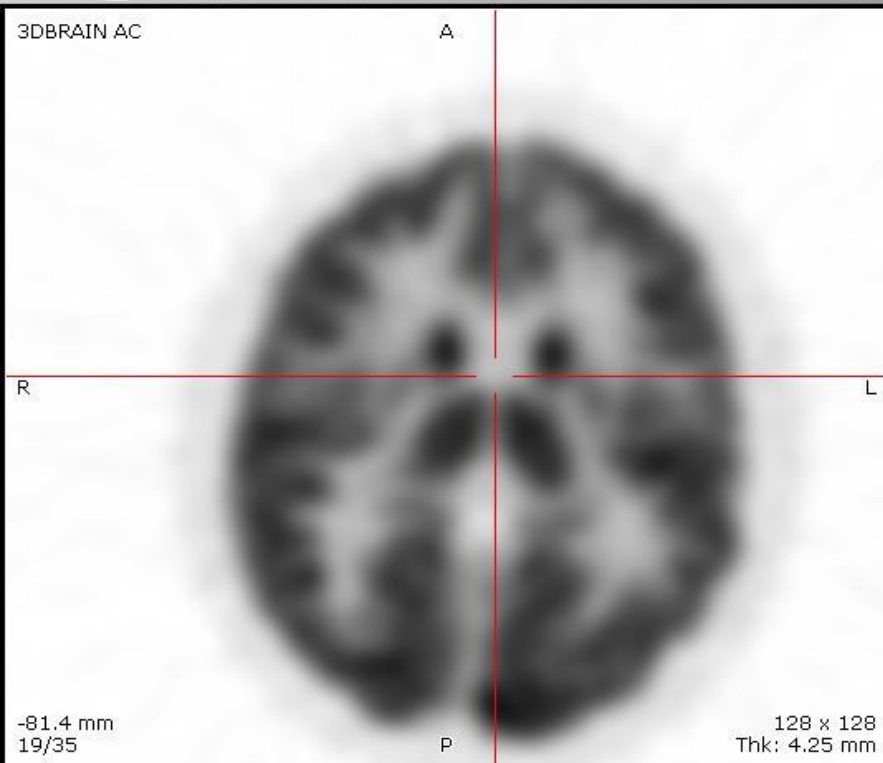
MRI y fMRI

- La fMRI es un caso particular de la MRI que permite mostrar en imágenes las regiones cerebrales que ejecutan una tarea determinada, registra la respuesta hemodinámica del cerebro (flujo de sangre).
- Se basa en varias hipótesis
 - (i) cada función cerebral es ejecutada por áreas más o menos definidas, (ii) incremento local de la vaso-dilatación cerebral provocando la llegada de oxígeno disminuyendo la desoxihemoglobina, (iii) la desoxihemoglobina es un imán magnético.

Técnicas basadas en Teoría de Información para el estudio de conectividad cerebral y transferencia de información entre nodos:

- Simétricas
- Asimétricas





SERIES



Coupes



Agencement



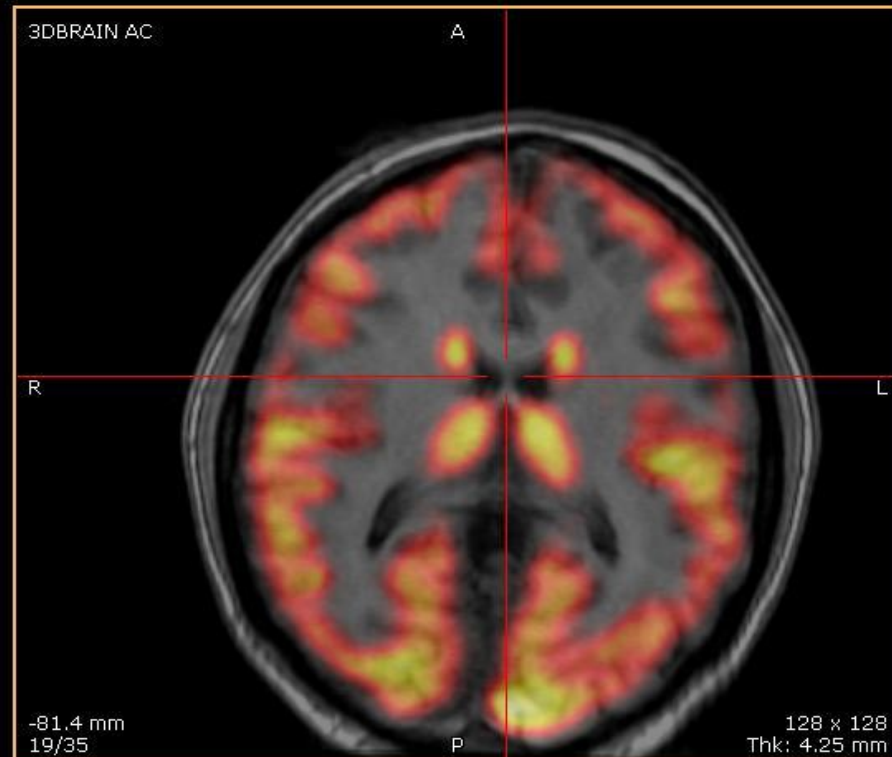
Zoom

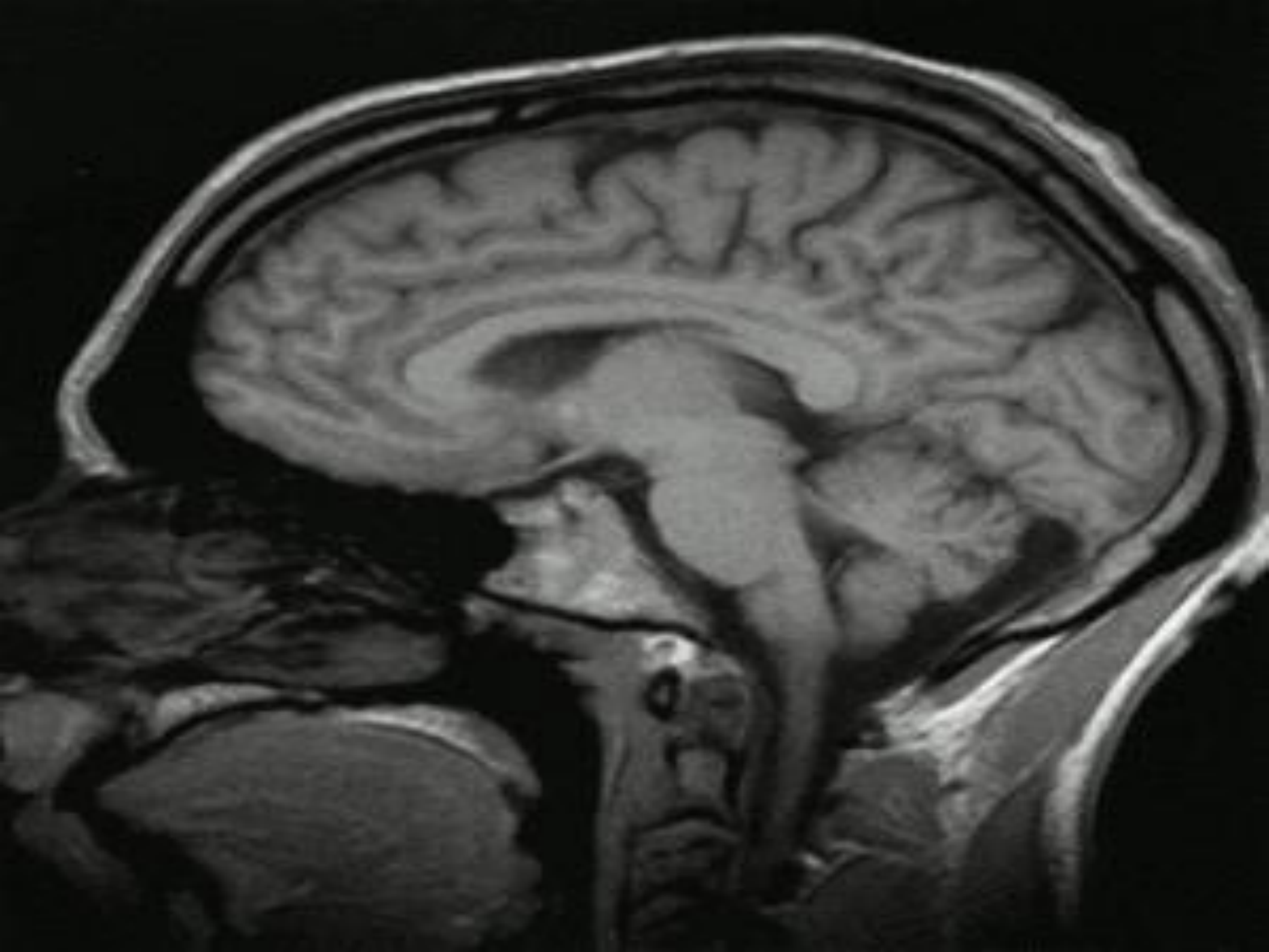


MIP



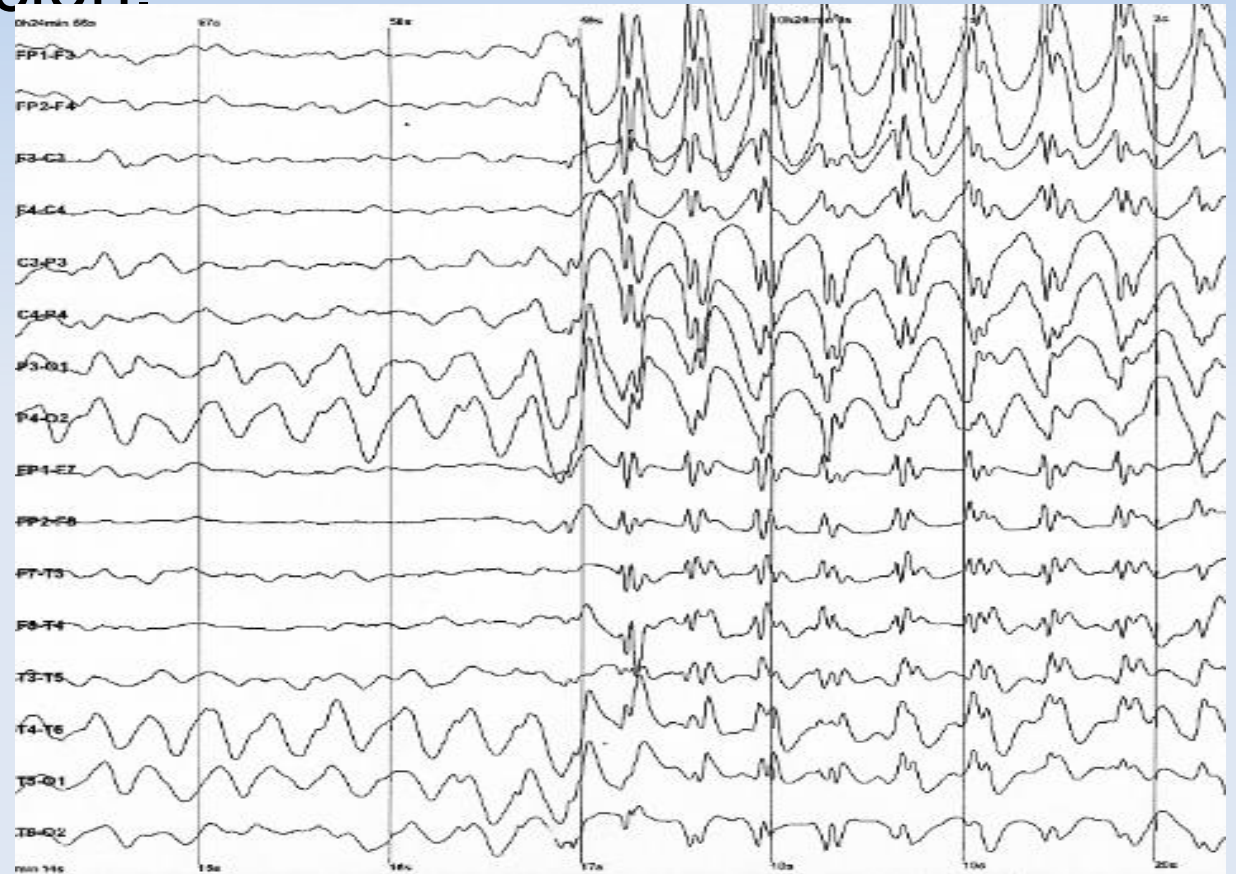
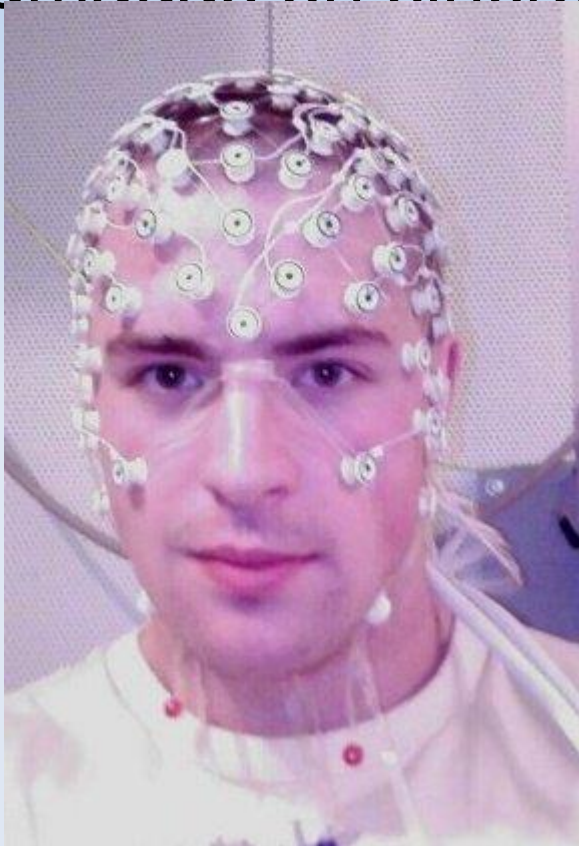
Epaisseur





Electroencefalografía (EEG)

- Es el registro de la actividad eléctrica del cerebro mediante una serie de electrodos distribuidos en diferentes partes en la cabeza.
- El EEG registra la actividad de todas la neuronas sumadas en sincronización.



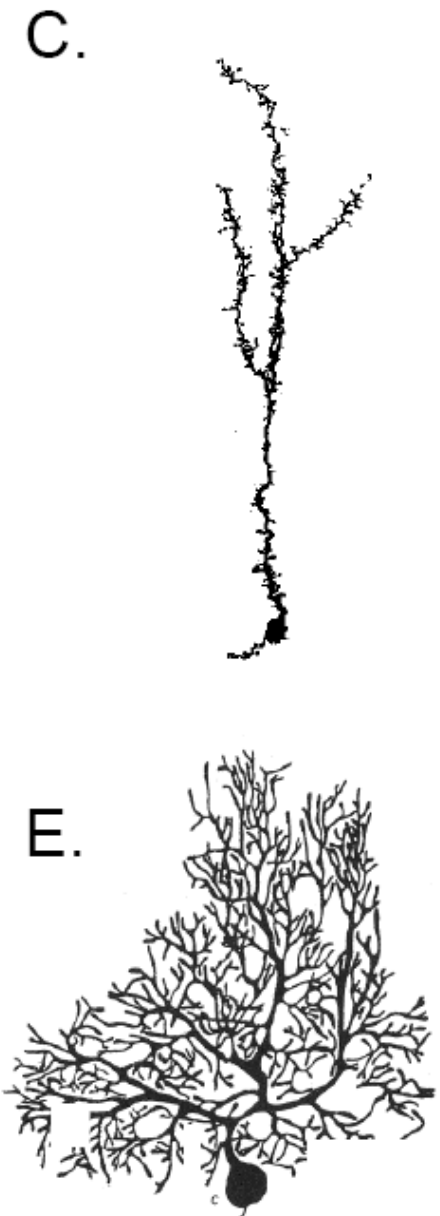
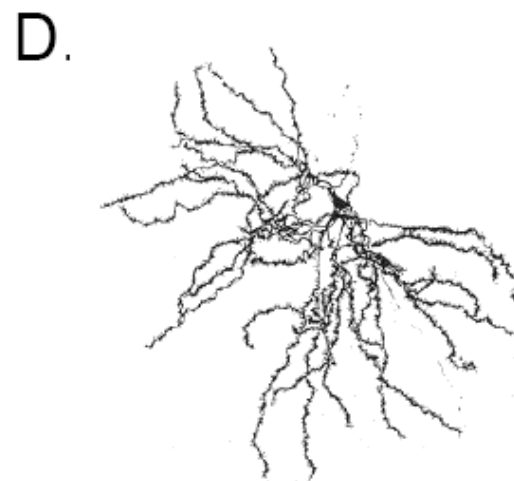
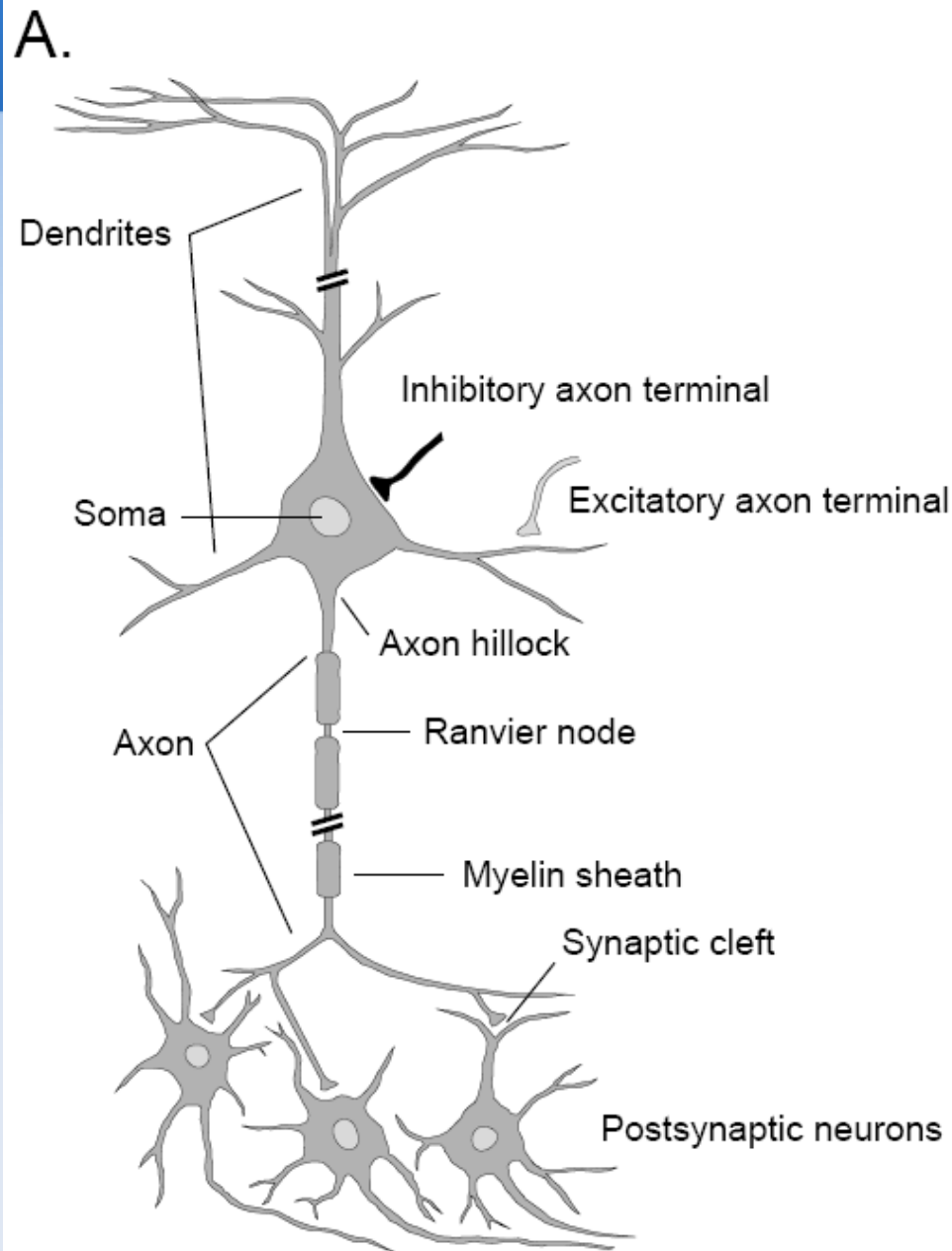
Técnicas Electrofisiológicas

- Respuestas neuronales de voltaje:
 - Actividad espontánea
 - Potenciales de acción
 - Bursts
- Experimentación “in vivo” (dentro del organismo)
- Experimentación “in vitro” (fuera del organismo)

Las Neuronas como Células Especializadas

- ▣ El siguiente resumen sobre las neuronas intenta describir algunas de las habilidades computacionales de las neuronas, y conceptos para vislumbrar un poco el procesamiento de información que tiene lugar en el SN.
- ▣ Las neuronas son células especializadas que se encargan del procesamiento de información en el cerebro.
- ▣ Hay muchos tipos de neuronas pero en general hay propiedades comunes a todas ellas

Las Neuronas: Propiedades Estructurales



Las Neuronas: Propiedades Estructurales

- ▣ A) Representa un típica neurona, similar a las células piramidales de la corteza: **Soma, axón, dendritas y conexiones sinápticas.**
- ▣ B) Es una neurona piramidal de la corteza motora.
- ▣ C) Es una neurona granular del bulbo olfatorio del ratón.
- ▣ D) Es una neurona espinosa (spiny neuron) del núcleo caudado (caudate nucleus).
- ▣ E) Célula de Purkinje del cerebelo.

Las Neuronas: Mecanismos de Procesamiento de Información

- ▣ Las neuronas pueden recibir señales de otras neuronas, típicamente unas 10.000.
- ▣ Se estima que hay neuronas que pueden tener hasta 50.000 entradas, tales como las neuronas piramidales del hipocampo.
- ▣ **Sinapsis:** puntos donde contactan las neuronas (Charles Sherrinton).
- ▣ Las sinapsis habilitan señales de las neuronas **presinápticas** hacía las **postsinápticas**, y eventualmente generando en estas un **pulso eléctrico**.

Las Neuronas: Mecanismos de Procesamiento de Información

- El pulso eléctrico se suele denominar **Potencial de Acción**.
- Usualmente se genera en el **axón-hillock** y viaja a lo largo de todo el axón (**integración no lineal**).
- El axón transmite la información a otras neuronas que están en su vecindad, o otras regiones del cerebro, a través de la materia blanca (no contiene cuerpos neuronales solamente axones y **células de Schwann** que proveen de mielina a las neuronas):
 - **Células de Schwann:** Aislante, soporte y guía en el crecimiento, aumento de la velocidad del impulso eléctrico, etc.

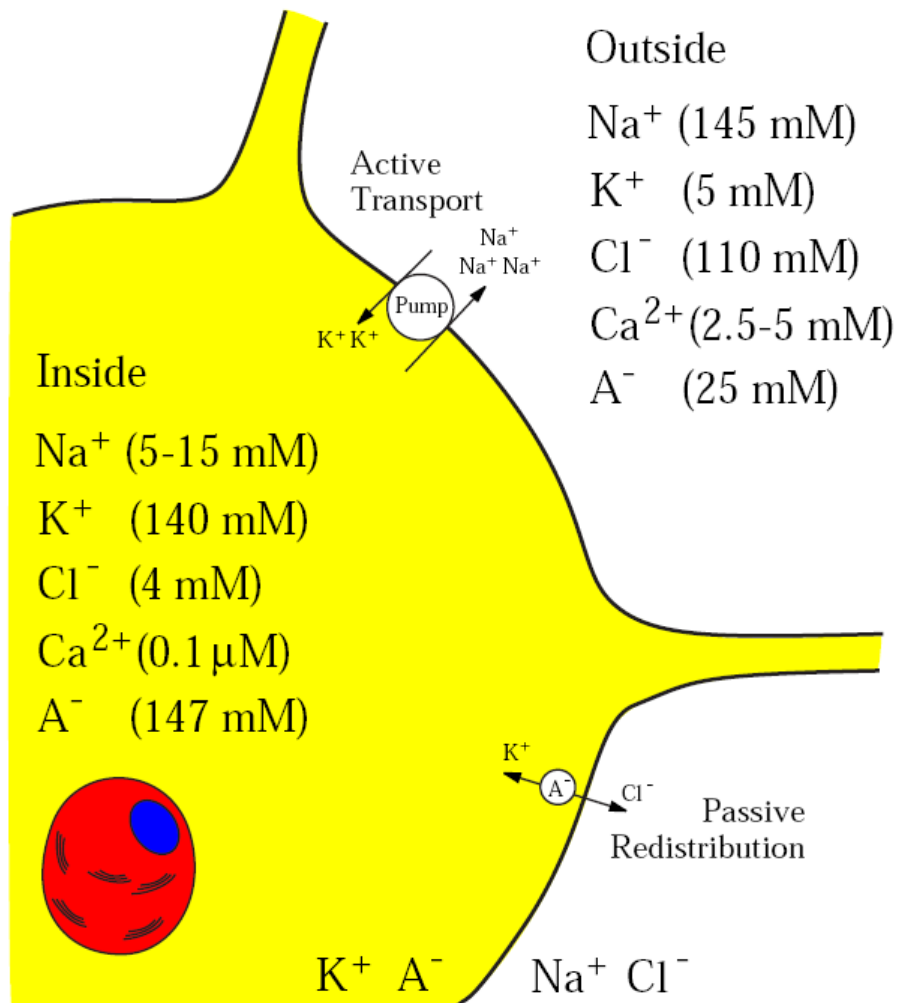
Las Neuronas: Potencial de Membrana

- ▣ Una de las características más importantes es la capacidad de poder variar el **potencial de membrana** por parte de una neurona, V_m .
- ▣ Este potencial de membrana se define como la diferencia de potencial entre el potencial eléctrico dentro de la neurona y el medio extracelular (diferencia en iones dentro y fuera, principalmente K^+ y Na^+).

Las Neuronas: Potencial de Membrana

- ▣ Una de las características más importantes es la capacidad de poder variar el **potencial de membrana** por parte de una neurona, V_m .
- ▣ Este potencial de membrana se define como la diferencia de potencial entre el potencial eléctrico dentro de la neurona y el medio extracelular (diferencia en iones dentro y fuera, principalmente K^+ y Na^+).

Las Neuronas: Potencial de Membrana



Nernst Potential

$$E_{\text{ion}} = \frac{RT}{zF} \ln \frac{[\text{Ion}]_{\text{out}}}{[\text{Ion}]_{\text{in}}}$$

Equilibrium Potentials

$$\text{Na}^+ \quad 62 \log \frac{145}{5} = 90 \text{ mV}$$

$$62 \log \frac{145}{15} = 61 \text{ mV}$$

$$\text{K}^+ \quad 62 \log \frac{5}{140} = -90 \text{ mV}$$

$$\text{Cl}^- \quad -62 \log \frac{110}{4} = -89 \text{ mV}$$

$$\text{Ca}^{2+} \quad 31 \log \frac{2.5}{10^{-4}} = 136 \text{ mV}$$

$$31 \log \frac{5}{10^{-4}} = 146 \text{ mV}$$

Figure 2.1: Ion concentrations and Nernst equilibrium potentials (2.1) in a typical mammalian neuron (modified from Johnston and Wu 1995). A^- are membrane-impermeant anions. Temperature $T = 37^\circ\text{C}$ (310°K).

Las Neuronas: Potencial de Membrana

Por ejemplo, en el interior hay más concentración de iones de potasio, K^+ , así que por difusión salen (tanto como la membrana sea permeable a este ion). Pero la membrana no es permeable a los aniones que se unen típicamente al potasio.

- Así la difusión deja un exceso de carga negativa en el interior y un exceso de positiva en el exterior.

- Así se genera una fuerza eléctrica por el incremento de diferencia de potencial de membrana que se equilibra con la diferencia de concentración de potasio dentro y fuera de la célula (el potencial suaviza la difusión, ya que los iones de K^+ son atraídos por los aniones y repelidos por los mismos iones de potasio fuera). Equilibrio dinámico (ver figura 2 transparencias más).

Las Neuronas: Potencial de Membrana

- ▣ Así se genera un equilibrio en potencial para el potasio, $E_K = -80\text{mV}$. Solamente sale una pequeña fracción de iones de potasio para generar este potencial.
- ▣ Lo mismo pasa para otros iones y en particular por ejemplo para los iones de sodio que en el exterior su concentración es superior al interior.
- ▣ En resumen todos estos movimientos de iones dan un potencial de reposo para la membrana de $V_{\text{rest}} = -65\text{mV}$ (depende del tipo neuronal).

Las Neuronas: Potencial de Membrana

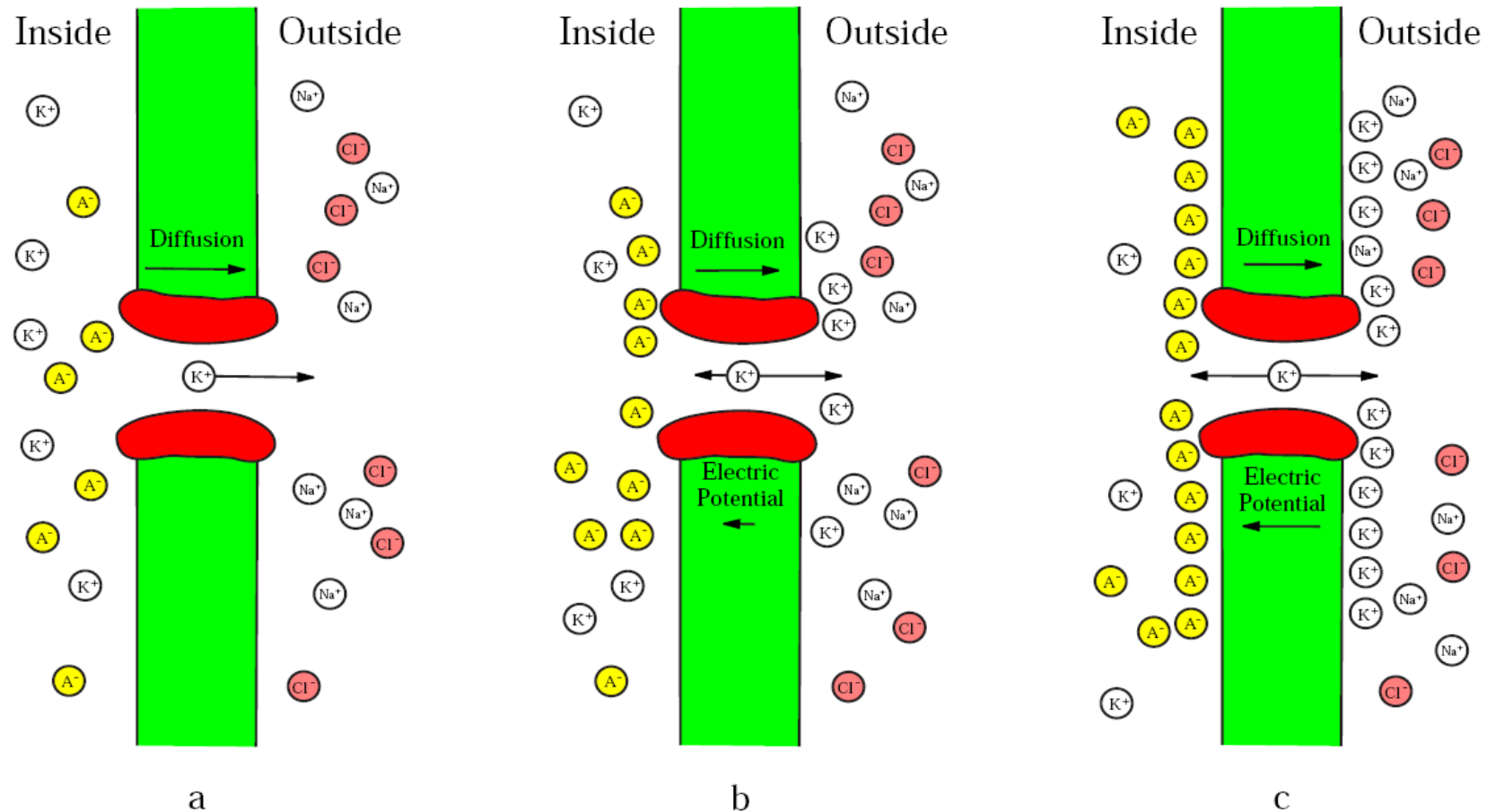


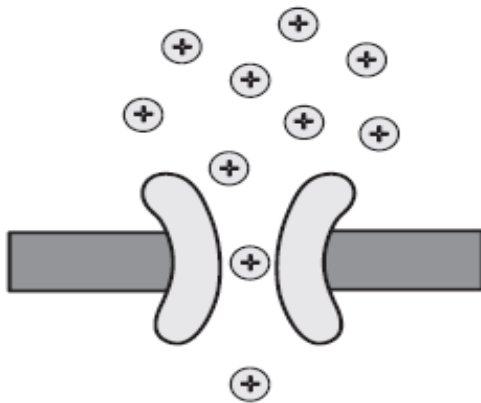
Figure 2.2: Diffusion of K^+ ions down the concentration gradient through the membrane (a) creates an electric potential force pointing in the opposite direction (b) until the diffusion and electrical forces counter each other (c). The resulting transmembrane potential (2.1) is referred to as the Nernst equilibrium potential for K^+ .

Las Neuronas: Canales iónicos

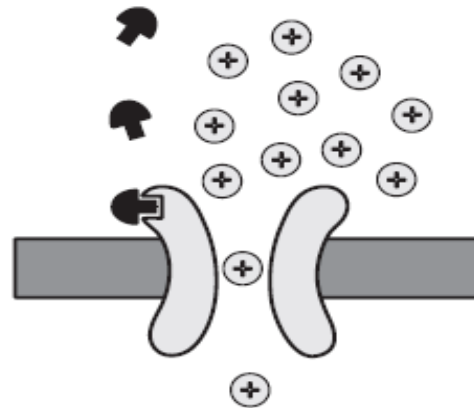
- ▣ La permeabilidad de la neurona a ciertos iones se realiza por los llamados **canales iónicos**.
- ▣ Son proteínas especiales embebidas en las membranas que dejan pasar iones como Na^+ , K^+ , Ca^{2+} y Cl^- .
- ▣ Por ejemplo, los canales que conducen a la neurona al potencial de reposo, están abiertos todo el rato.
- ▣ Pero existen otro tipo de canales más complicados que participan activamente del proceso informativo de las neuronas.

Las Neuronas: Canales iónicos

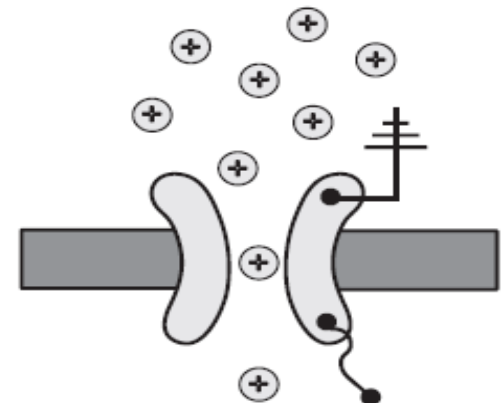
A. Leakage channel



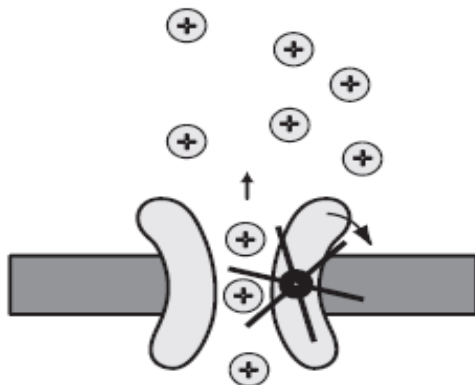
B. Neurotransmitter-gated ion channel



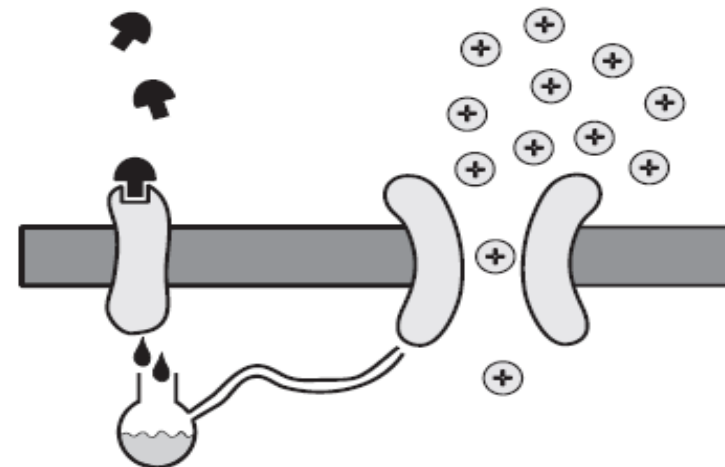
C. Voltage-gated ion channel



D. Ion pump



E. Second messenger ion channel



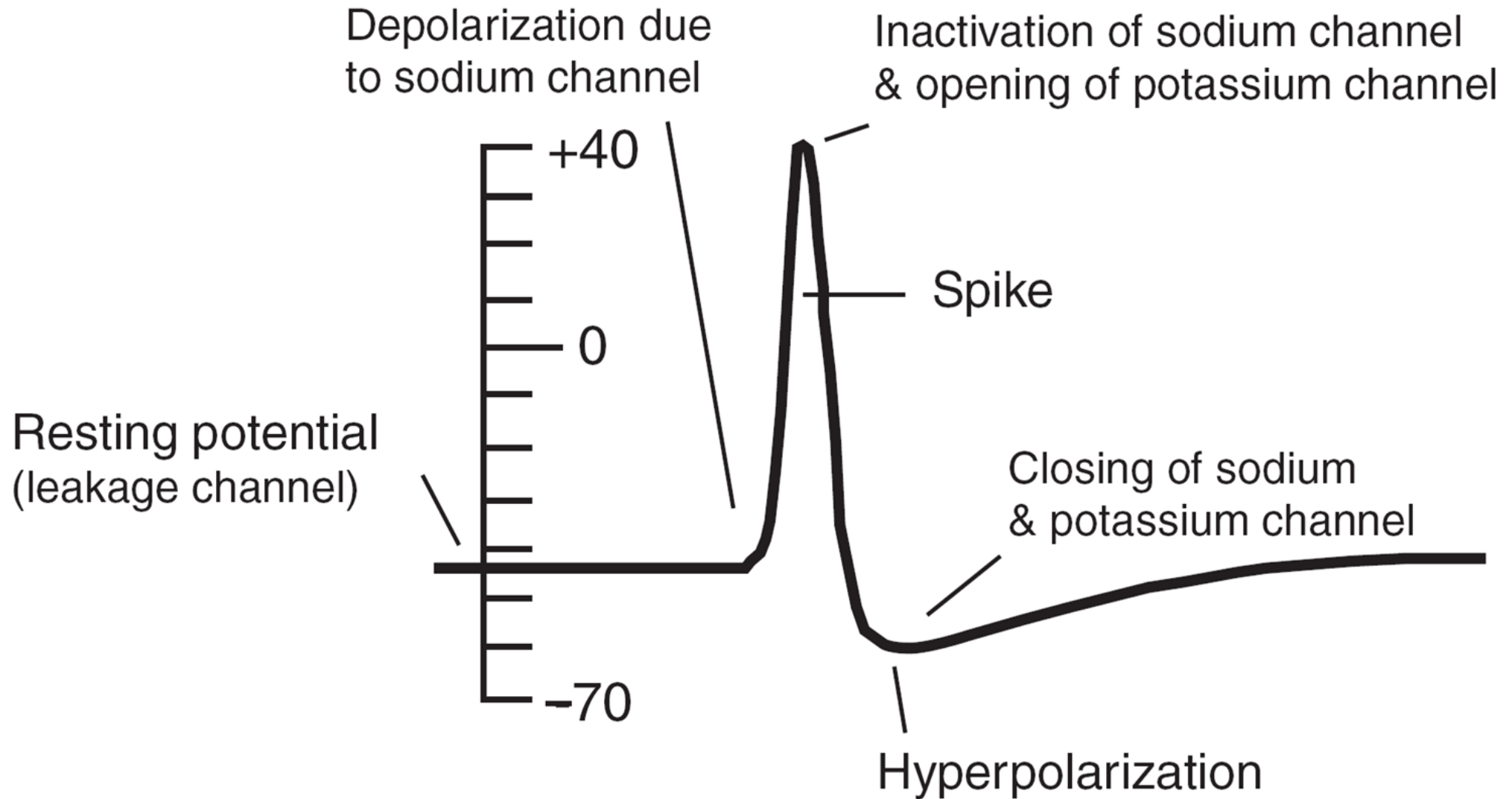
Las Neuronas: Canales iónicos

- ▣ A) Canales de pérdida, están siempre abiertos.
- ▣ B) Cuando se une un neurotransmisor se abren.
- ▣ C) La apertura es dependiente de voltaje. También se pueden combinar con B) (NMDA, no se muestran en la figura).
- ▣ D) Bombas iónicas, transportan los iones en contra de gradiente.
- ▣ E) Algunos neurotransmisores generan segundos mensajeros que abren los canales.

Potencial de Acción

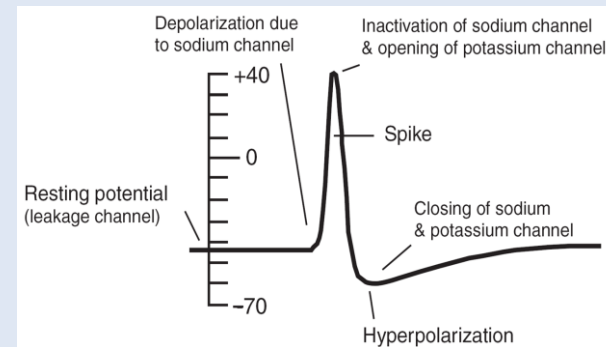
- El potencial de reposo se altera por los neurotransmisores de la neurona "pre".
- Primero vamos a describir como se puede generar un potencial de acción.
- Se caracteriza por un incremento rápido del potencial de membrana (despolarización), seguido de un decremento rápido del potencial incluso por debajo del potencial de reposo (hiperpolarización), volviendo posteriormente al potencial de reposo de la neurona.

Potencial de Acción

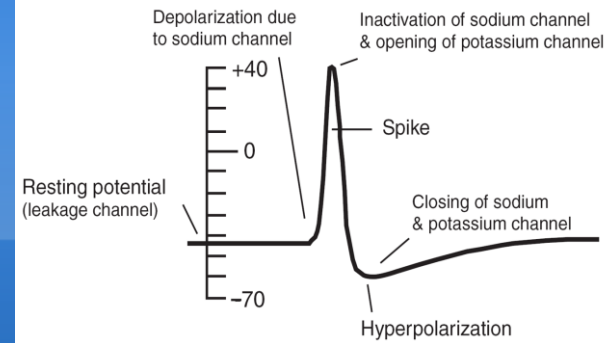


Potencial de Acción

- Al menos 2 tipos de canales iónicos dependientes de voltaje y uno estático son necesarios para la generación del "spike".
- Un canal dependiente de voltaje para el **sodio**, es el responsable de la **despolarización**.
- Cuando los neurotransmisores suben suficientemente el potencial de membrana, los canales dependientes de voltaje para sodio se abren entrando este en la neurona (despolarización).



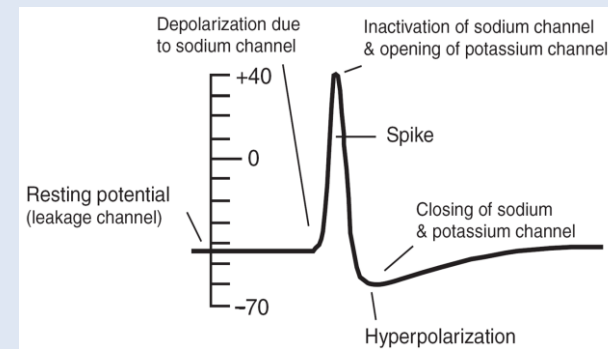
Potencial de Acción



- La dominancia del canal de sodio lleva a la neurona al potencial de reposo para el sodio (unos +65mV).
- Posteriormente, dos procesos contribuyen a la **caída del potencial**:
- **Bloqueo del canal de sodio** por una parte de la proteína que abre el canal (1 ms después de su apertura).
- Un **segundo tipo de canal dependiente de voltaje para el potasio se abre**, saliendo este de la célula. Estos canales se abren un 1ms después que se supera el umbral de disparo (en contraste con los de sodio que se abren inmediatamente a la superación del umbral).

Potencial de Acción

- En este caso la predominancia del canal de potasio, conduce a la membrana al potencial de reposo para el potasio (unos -80 mV), bajando incluso por debajo del potencial de reposo para la membrana.
- La **hiperpolarización cierra ambos canales** llevando el potencial de membrana al reposo.
- La repetición de potenciales de acción (entrada de sodio y salida de potasio), podría desequilibrar los niveles normales de iones, y producir un fallo en la generación del "spike".



Potencial de Acción

- Para eso están las bombas iónicas.
- Es un tipo de canal que transporta los iones en contra de gradiente (consumiendo grandes cantidades de energía).
- Los canales de bombas de iones, restablecen las diferencias de concentraciones adecuadas para una correcta generación de potenciales de acción (mete potasio y saca sodio).

Mecanismos Sinápticos Básicos

- ▣ La transmisión de señales entre neuronas es fundamental en el procesamiento de información neuronal.
- ▣ Son las sinapsis quienes modulan ese intercambio de mensajes.
- ▣ La efectividad de las sinapsis puede ser modulada de varias formas (**plasticidad sináptica**).
- ▣ Las sinapsis químicas son las más comunes, aunque también existen las eléctricas.

Mecanismos Sinápticos Básicos:

Sinapsis y Neurotransmisores

- ▣ Las sinapsis químicas consisten en extensiones especializadas del axón y sitios especializados de las dendritas.
- ▣ Estos terminales axónicos pueden sintetizar neurotransmisores, concentrarlos y almacenarlos en las vesículas sinápticas.
- ▣ La llegada de un potencial de acción abre las vesículas y libera los neurotransmisores, hacia la dendritas postsinápticas.

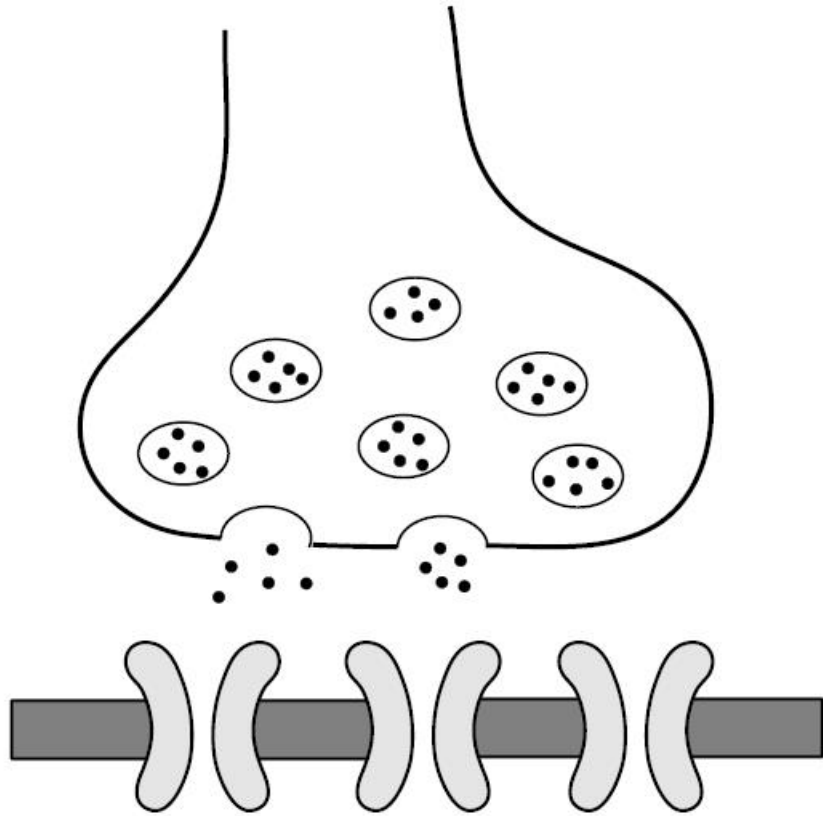
Mecanismos Sinápticos Básicos:

Sinapsis y Neurotransmisores

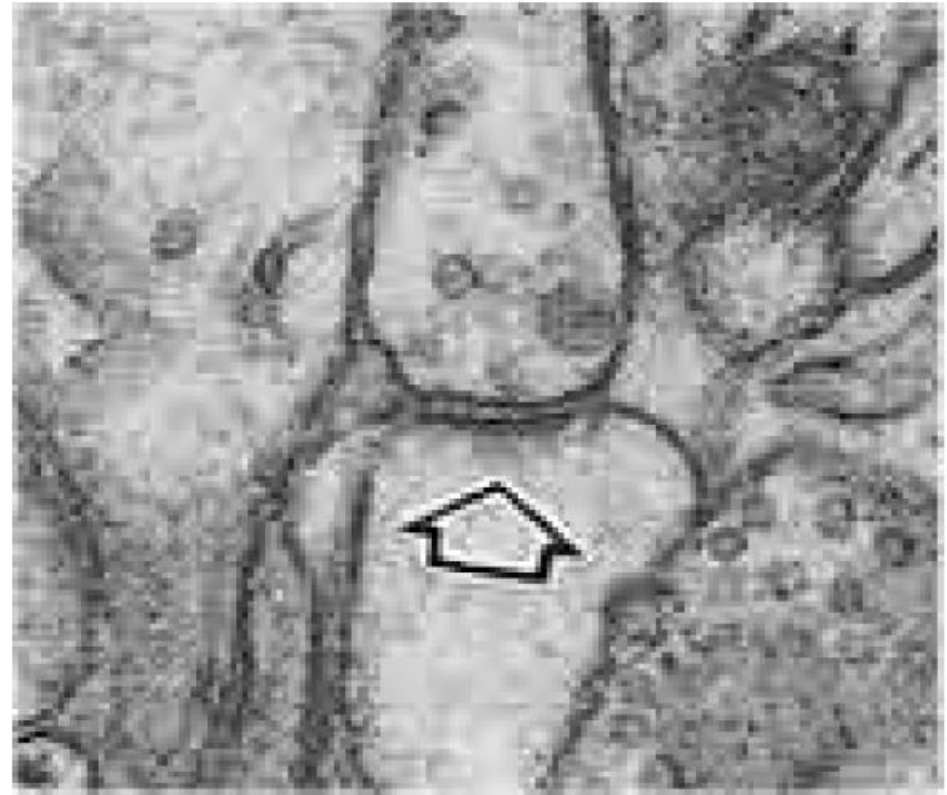
- ▣ Esos neurotransmisores viajan hacia las dendritas, a través del “gap” sináptico (unos pocos micrómetros, 10^{-6} m).
- ▣ Dependiendo del tipo de neurotransmisor inicia un proceso diferente en la neurona postsináptica.
- ▣ Hay muchos tipos: Glutamato (**Glu**), ácido gamma-aminobutérico (**GABA**), Dopamina (**DA**), Acetil-colina (**Ach**) presente en las uniones neuromusculares (para iniciar los movimientos musculares).

Mecanismos Sinápticos Básicos: Sinapsis y Neurotransmisores

A.



B.



Mecanismos Sinápticos Básicos:

Sinapsis y Neurotransmisores

- ▣ Neurotransmisores Glu y GABA se unen a los canales postsinápticos, cambiando la conformación de la proteína y así abren el canal.
- ▣ Así este tipo de canal regula la conductancia a través del neurotransmisor que se adhiere, haciendo fluir los iones por ese canal.
- ▣ La respuesta del potencial de membrana, se llama **potencial postsináptico (PSP)**.
- ▣ La generación del PSP es un proceso altamente **no lineal** (doble de neurotransmisores o doble de sinapsis no necesariamente incrementa el doble el PSP).

Mecanismos Sinápticos Básicos:

Sinapsis Excitatorias e inhibitorias.

- ▣ **Excitatorias:** Los neurotransmisores (Glu) permiten que entren iones positivos en el interior de la neurona. Así aumenta el potencial de membrana (**EPSPs**)
- ▣ **Inhibitorias:** Proceso contrario (GABA), (**IPSPs**).
- ▣ Otras sinapsis más singulares:
 - ▣ Otros neurotransmisores actúan como moduladores de la efectividad de otras sinapsis como segundos mensajeros.
 - ▣ Funciones AND: solo cuando dos tipos de neurotransmisores están activos hay un cambio efectivo en el potencial de membrana.

Mecanismos Sinápticos Básicos:

Modelización de PSPs

- Típicamente el cambio en el potencial de membrana postsináptico empieza con un retraso respecto al disparo presináptico.
- El retraso: Tiempo de liberación del neurotransmisor + tiempo de difusión del neurotransmisores + tiempo necesario para abrir los canales (menor de 1 ms).
- El proceso conjunto se suele aproximar como un global, y se suelen deprecia los procesos que lo forman.

Mecanismos Sinápticos Básicos:

Modelización de PSPs

□ El EPSP se modela con una función alfa:

$$\square \Delta V_m^{\text{no-NMDA}} = w t e^{-t/t_{\text{peak}}}$$

□ ΔV_m representa el cambio de potencial, w representa la efectividad sináptica.

□ Una función de la forma $f(x) = x \exp(-x)$, se denomina función alfa.

□ Estas funciones modelan la evolución postsináptica de un potencial, por inducción de un potencial presináptico.

□ La forma de estas funciones se ajusta según datos experimentales.

Mecanismos Sinápticos Básicos:

Modelización de PSPs

- ▣ La función alfa no es la única forma de parametrizar los potenciales postsinápticos.
- ▣ Así, por ejemplo, se puede utilizar una combinación de exponenciales.
- ▣ No obstante, consideraremos en esta parte a la función alfa como una función genérica que parametriza la evolución dinámica en el tiempo de potencial postsináptico.
- ▣ t_{peak} representa el tiempo de máxima efectividad de la sinapsis (depende del tipo de sinapsis).
- ▣ No-NMDA (N-metil-D-aspartato; glutamérgica), es relativamente rápida (alrededor de 0.5 ms).

Mecanismos Sinápticos Básicos:

Modelización de PSPs

- IPSPs se modelizan exactamente igual, salvo un signo negativo en la efectividad sináptica
- Las sinapsis NMDA son excitatorias más lentas, típicamente unas 10 veces más.
- Están asociadas con procesos de plasticidad sináptica.
- Y además son un ejemplo de sinápsis dependiente de neurotransmisor y de voltaje.
- $\Delta V_m^{\text{NMDA}} = c(V_m) e^{-t/\tau_1} - e^{-t/\tau_2}$
- La amplitud es dependiente del potencial de membrana.

Mecanismos Sinápticos Básicos:

Modelización de PSPs

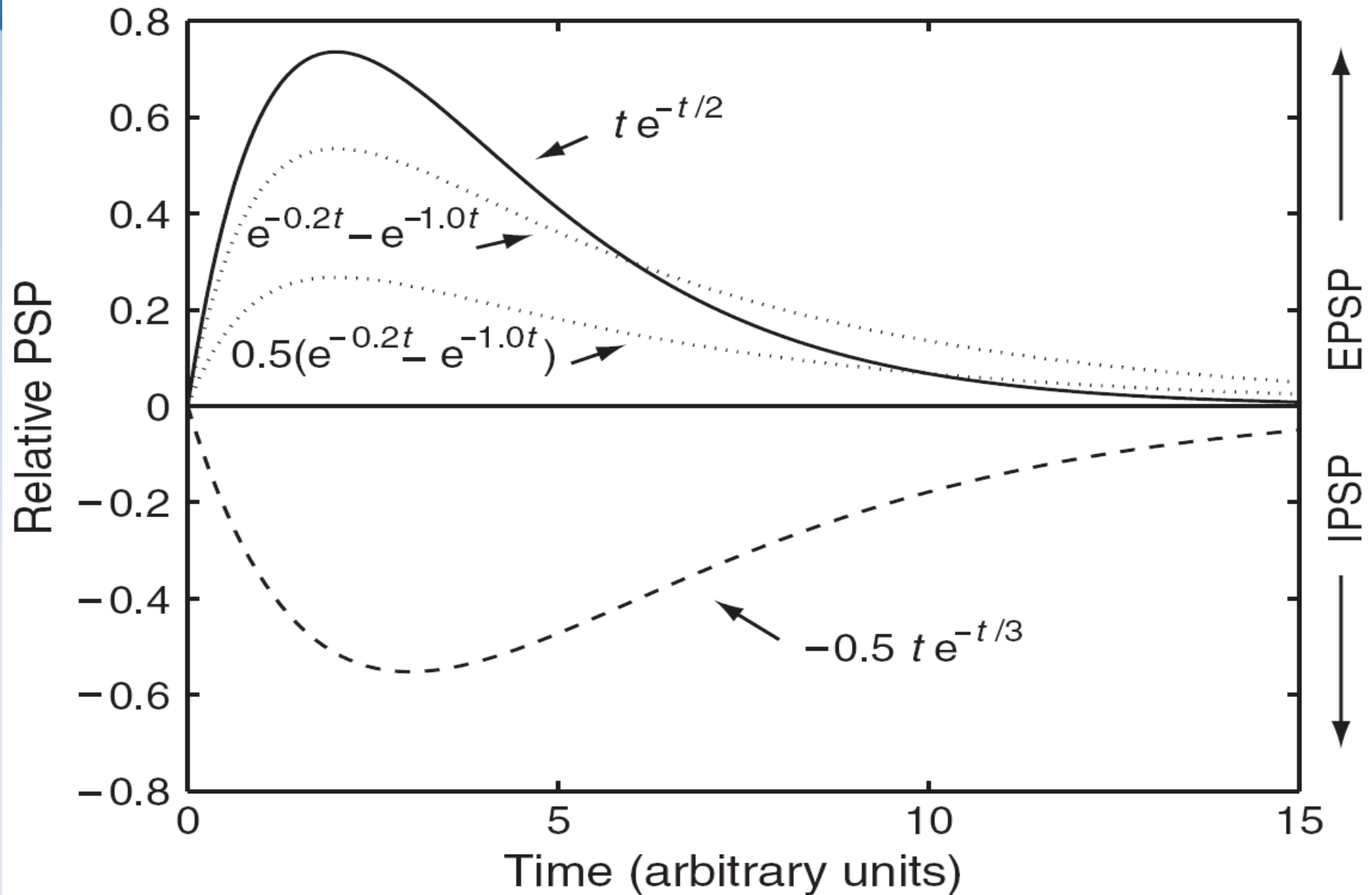
- Es importante que algunos de estos canales se abren si la “post” ha sido excitada previamente. Es decir el potencial de membrana ha sido incrementado a través de otros canales iónicos.
- La razón es que el canal NMDA es bloqueado por iones de magnesio en el potencial de reposo de la neurona.
- Los iones de magnesio pueden ser eliminados entrando en la neurona, solamente después que el sodio y calcio entren en la neurona (2 principales iones que pasan a través de este canal).

Mecanismos Sinápticos Básicos:

Modelización de PSPs

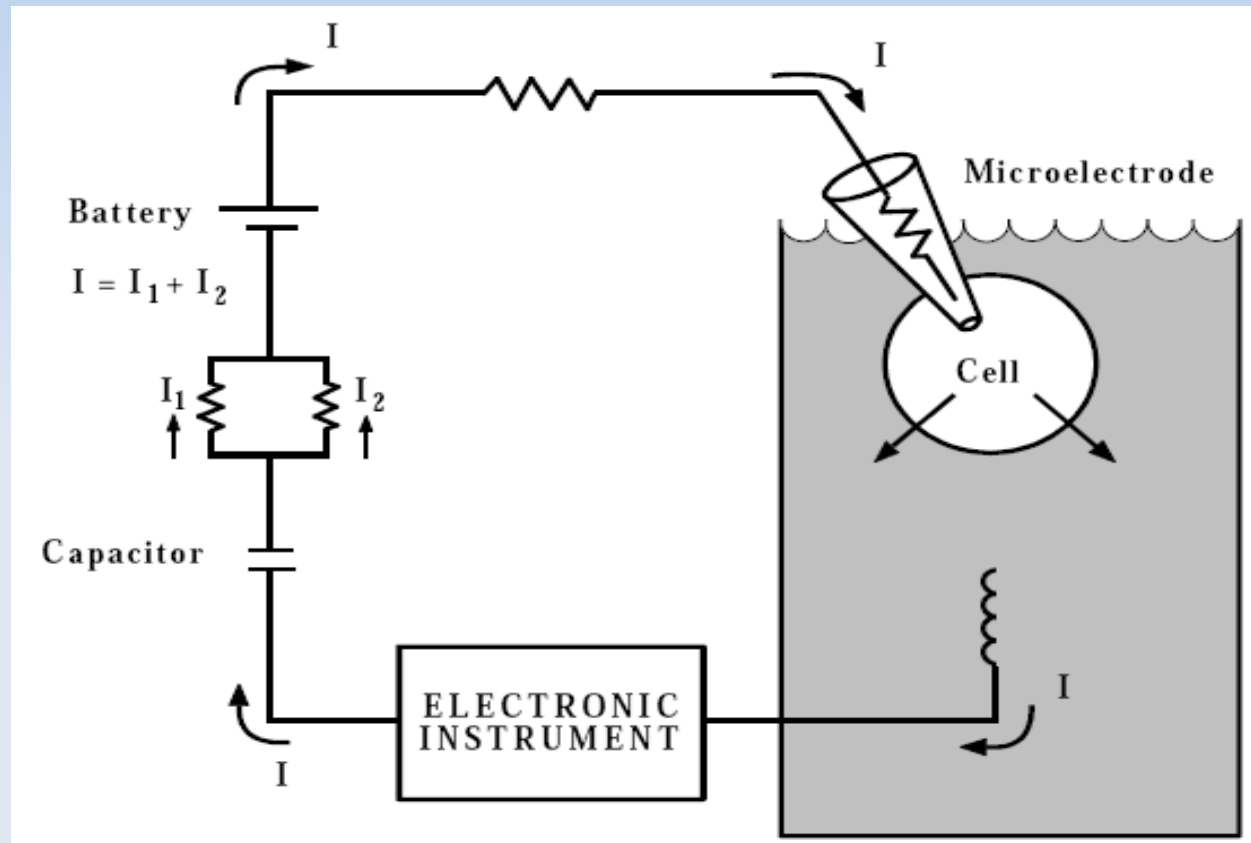
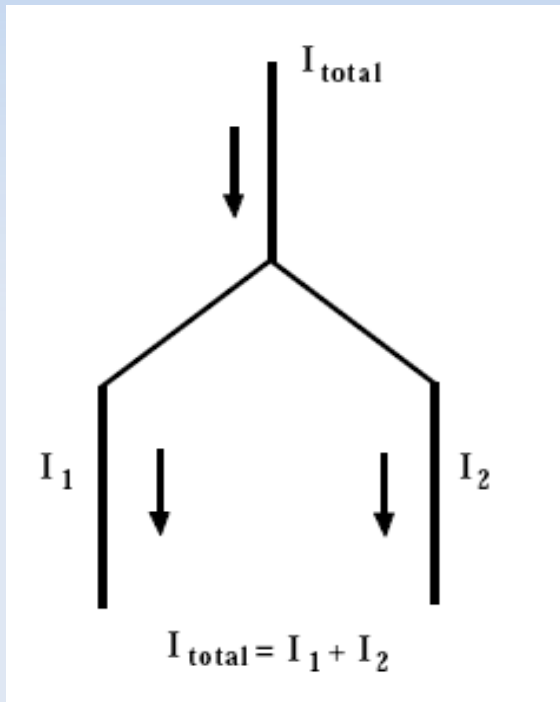
- ▣ La superposición de PSPs es no lineal aunque en los modelos se suele hacer lineal.
- ▣ Hay ciertos canales dependientes de voltaje que mantienen una relación no lineal entre voltaje y corriente iónica inducida.
- ▣ Por ejemplo un tipo de receptor al neurotransmisor GABA, llamado GABA_a, no tiene efecto en el potencial de membrana si este está en reposo y por tanto no se reduce más el potencial de membrana con la inhibición.
- ▣ Estas propiedades no lineales dotan a la célula de más capacidades de procesamiento de información en las redes neuronales biológicas (campo aún inexplorado).

Mecanismos Sinápticos Básicos: Modelización de PSPs



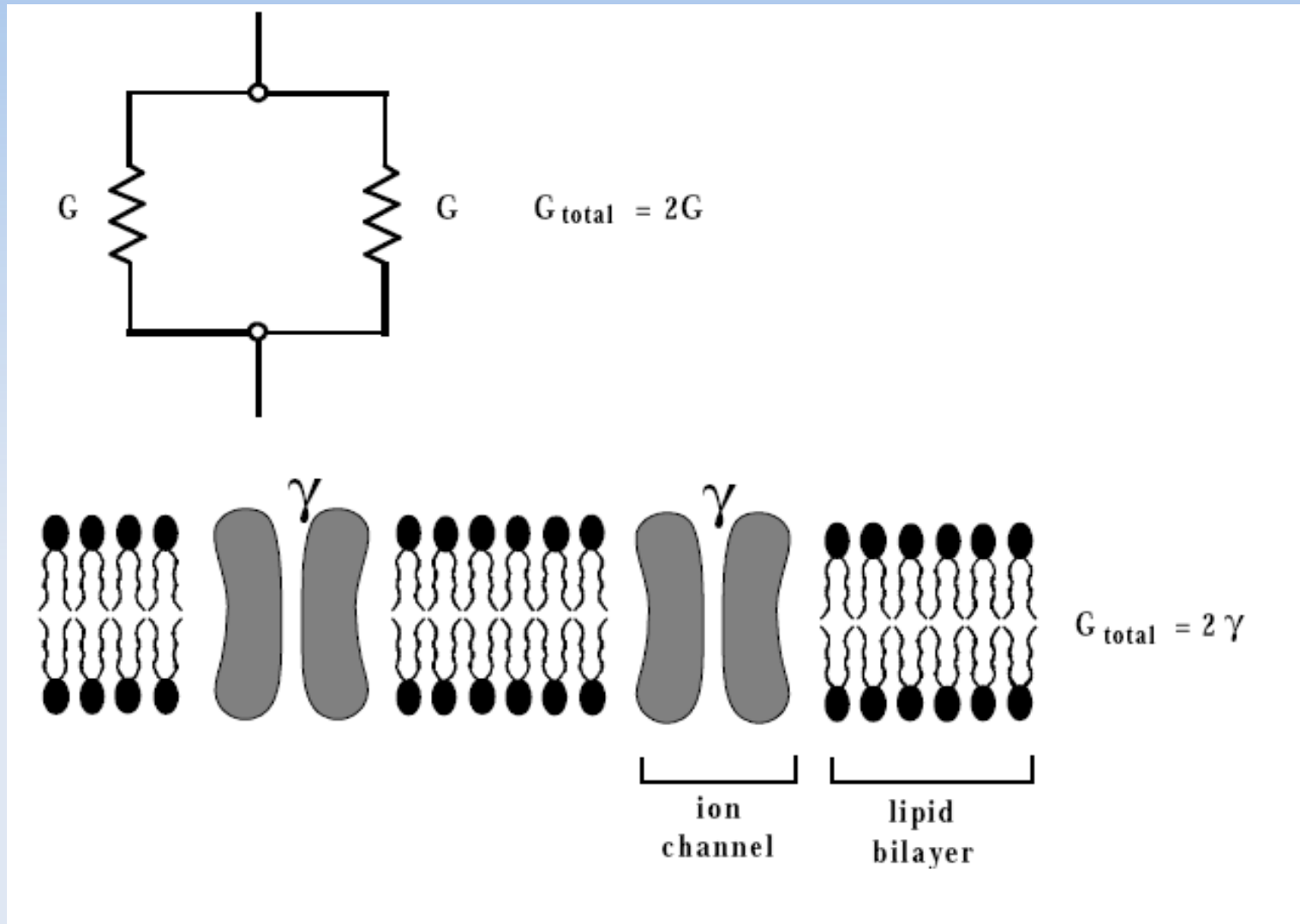
Bioelectricidad

- Análisis de potenciales eléctricos de la membrana (milivoltios)
- Análisis de corrientes eléctricas (pico-amperios a micro-amperios).



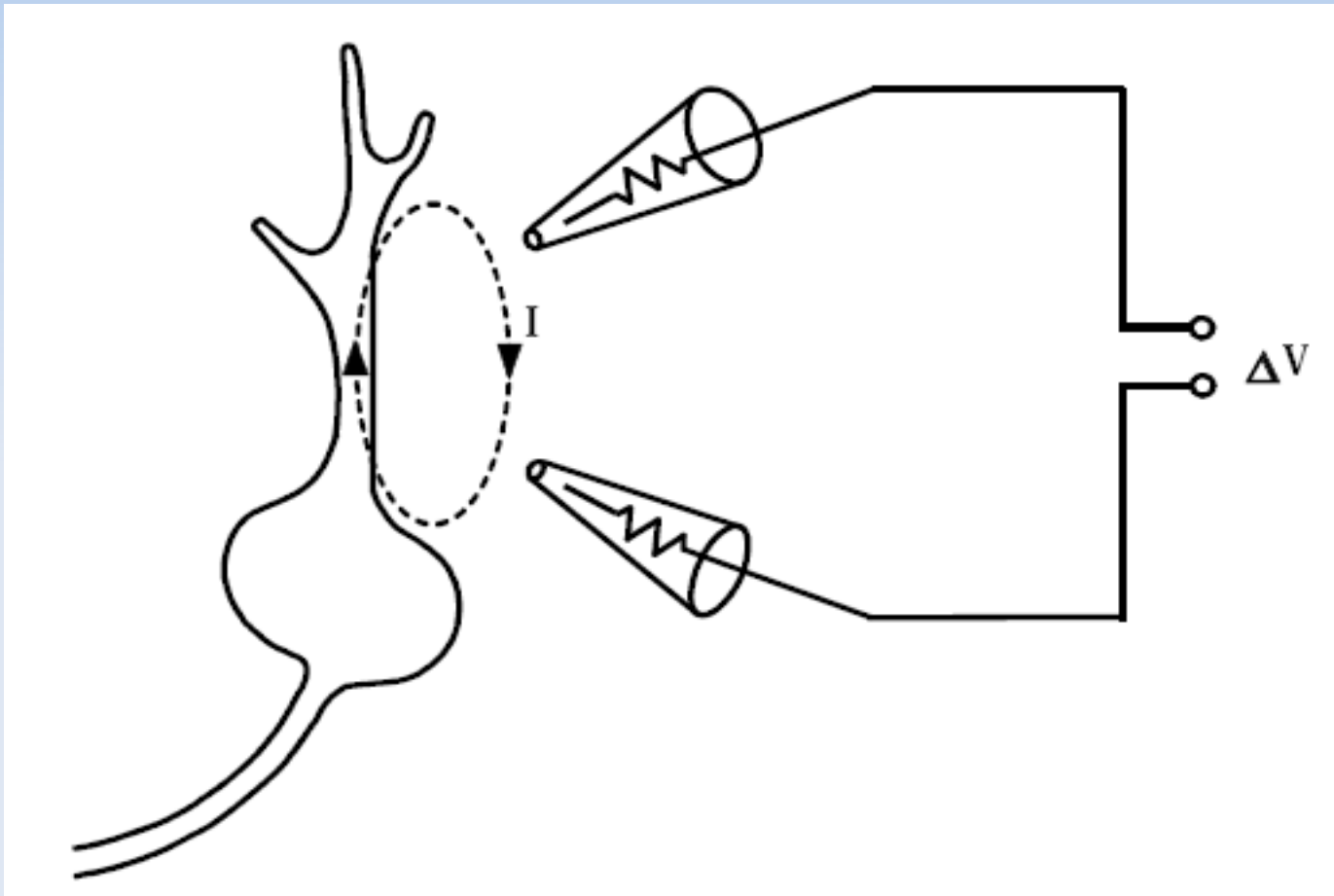
Bioelectricidad

Sumación de la conductancia

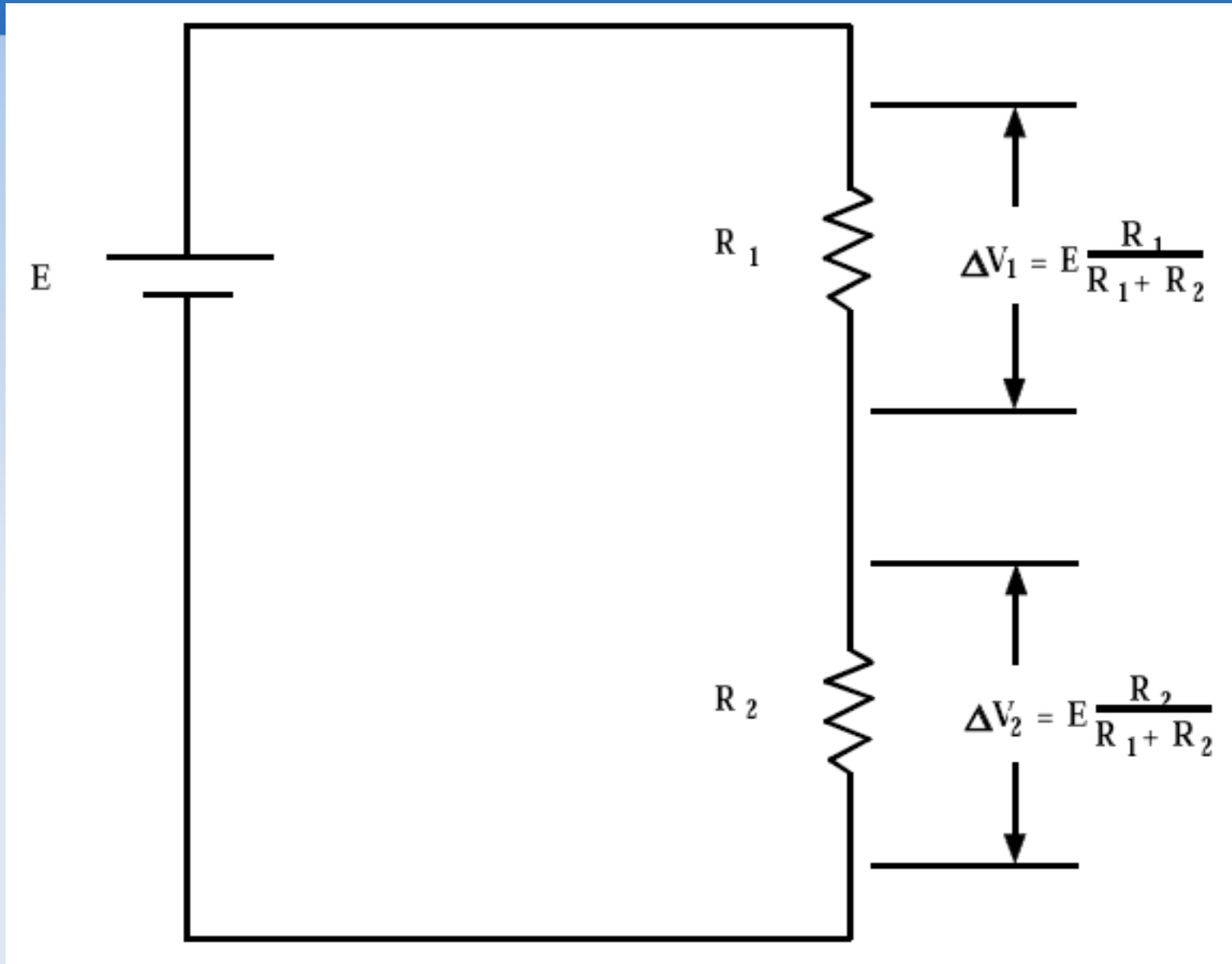


Bioelectricidad

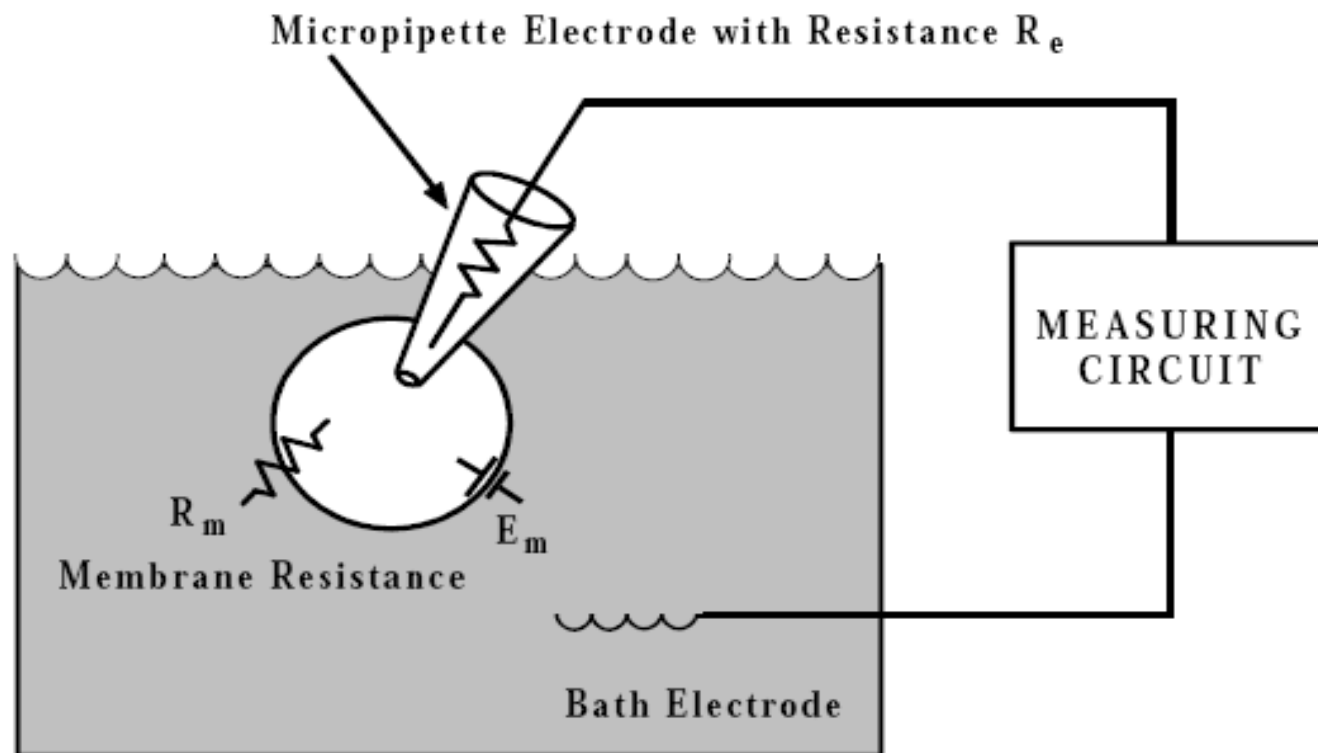
Como fluye la corriente en mediciones extracelulares entre dos puntos de la célula y mide la caída de potencial a lo largo de la resistencia entre los dos electrodos.



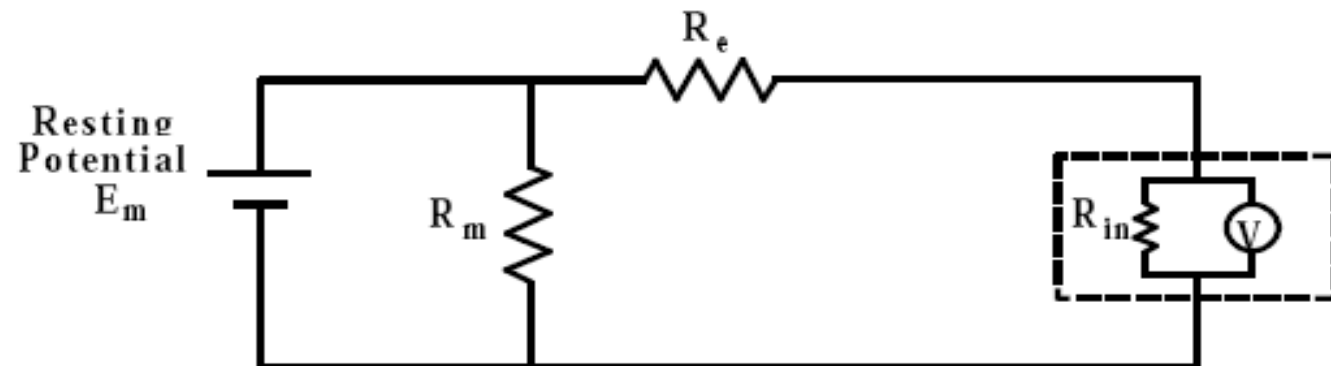
Bioelectricidad



Bioelectricidad



EQUIVALENT CIRCUIT



$$V = E_m \frac{R_{in}}{R_{in} + R_e}$$

Tipos de Técnicas de Registros:

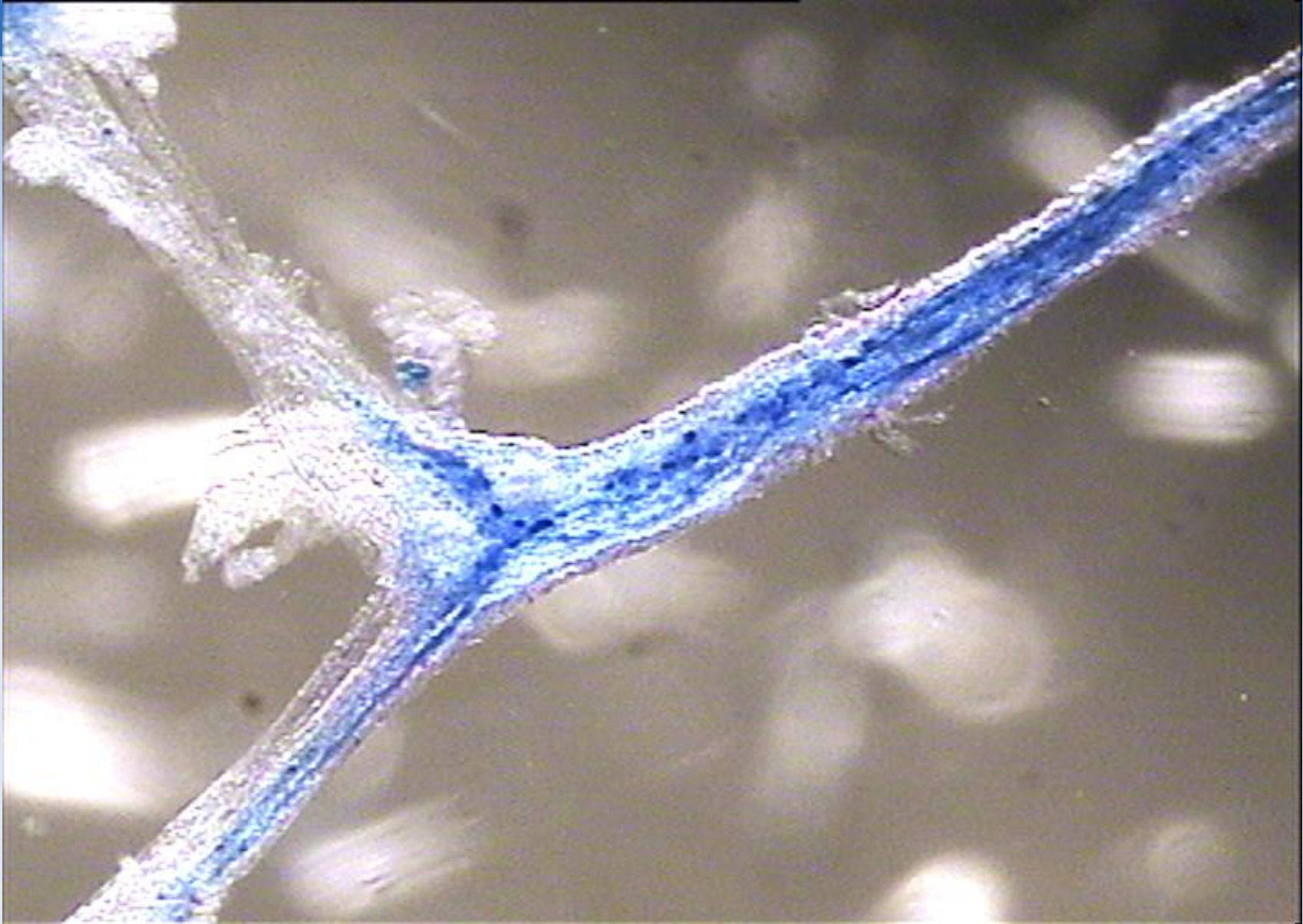
- **Current Clamp:** In a current-clamp experiment, one applies a known constant or time-varying current and measures the change in membrane potential caused by the applied current. This type of experiment mimics the current produced by a synaptic input.
- **Voltage Clamp:** In a voltage clamp experiment one controls the membrane voltage and measures the transmembrane current required to maintain that voltage.
- **The patch clamp** is a special voltage clamp that allows one to resolve currents flowing through single ion channels.

Laboratorio

Extra/Intracellular Microelectrode Setup

Item	Suggested Manufacturers
Vibration isolation table	Newport Micro-g (Technical Manufacturing Co.)
Microscope	Zeiss Nikon Olympus
Micromanipulators <i>mechanical</i>	Narashige Prior
<i>hydraulic</i>	Narashige
<i>pneumatic</i>	Technical Products International
<i>motorized</i>	Newport
<i>piezoelectric</i>	Burleigh
Microelectrode amplifiers	Axon Instruments, Inc.
Tape recorders (VCR-based)	Instrutech Neurodata Bio-Logic
Oscilloscopes	Tektronix Gould
Electrode fabrication <i>glass</i> <i>pullers</i>	see Chapter 4 David Kopf Sutter Instrument Company
Microelectrode holders	Axon Instruments, Inc. E. W. Wright
Chamber, temperature control	Medical Systems Corp. Narishige
Computers	See Chapter 8

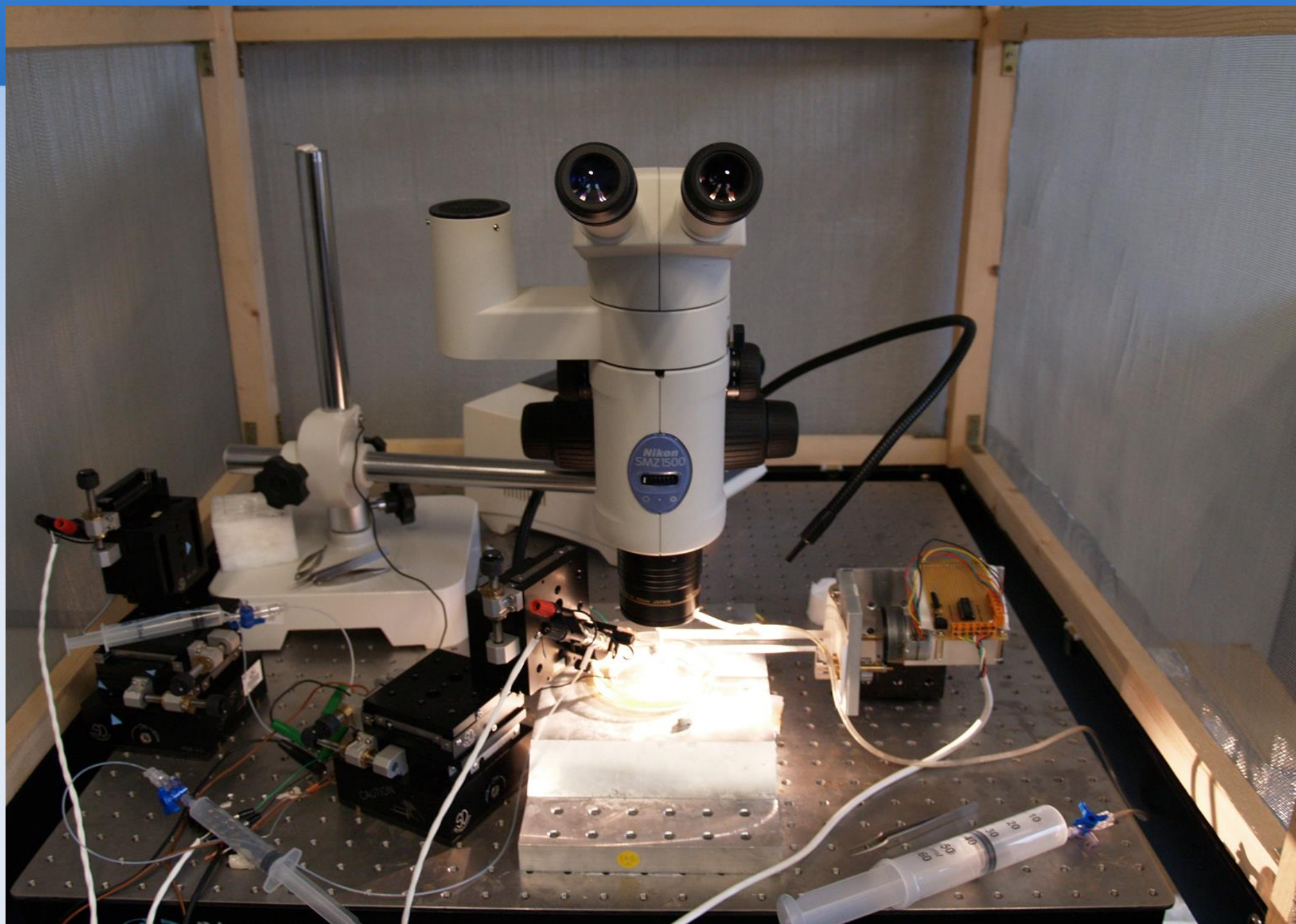
Laboratorio



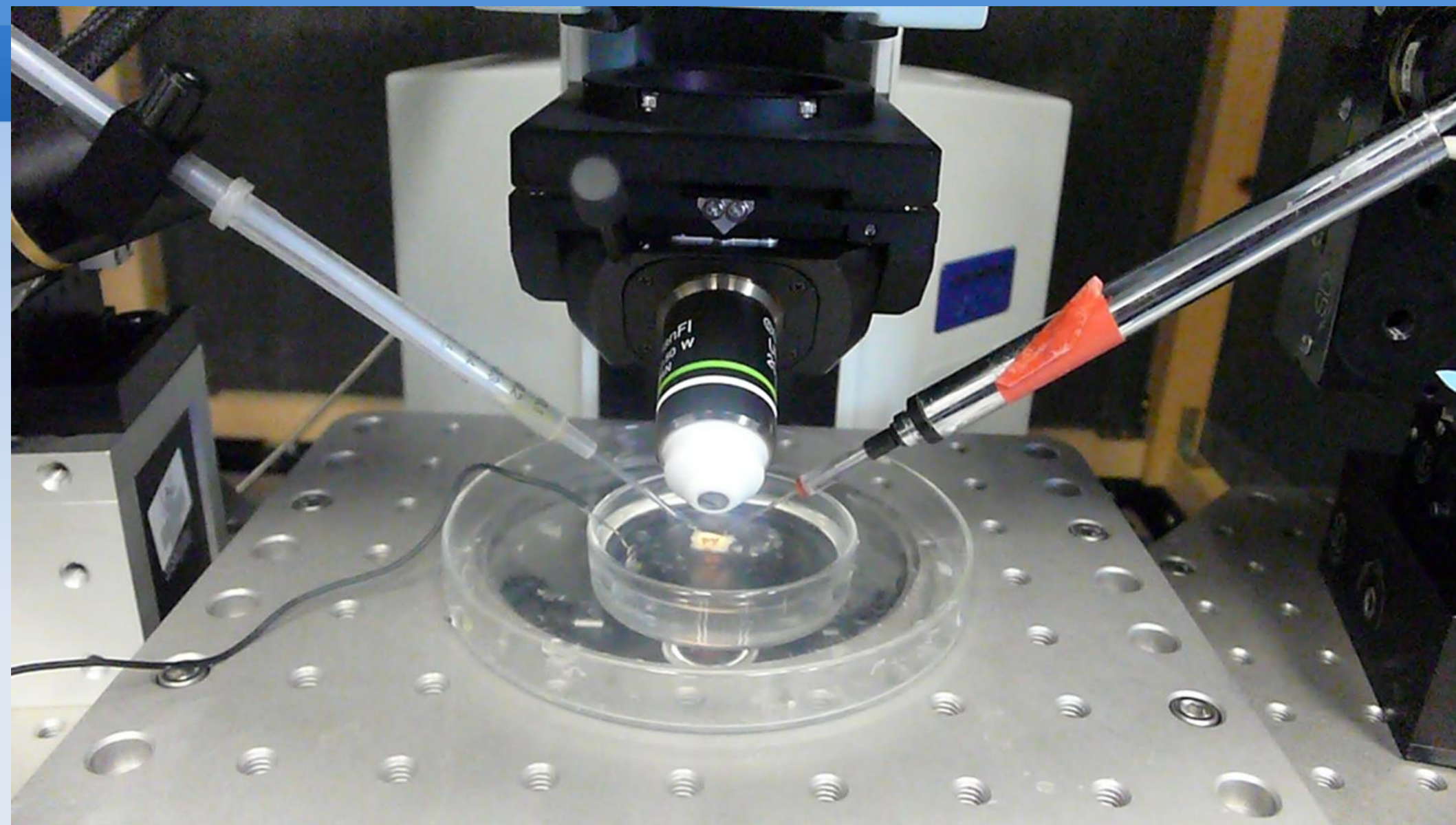
Laboratorio



Laboratorio



Laboratorio



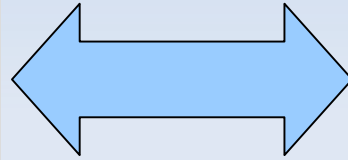
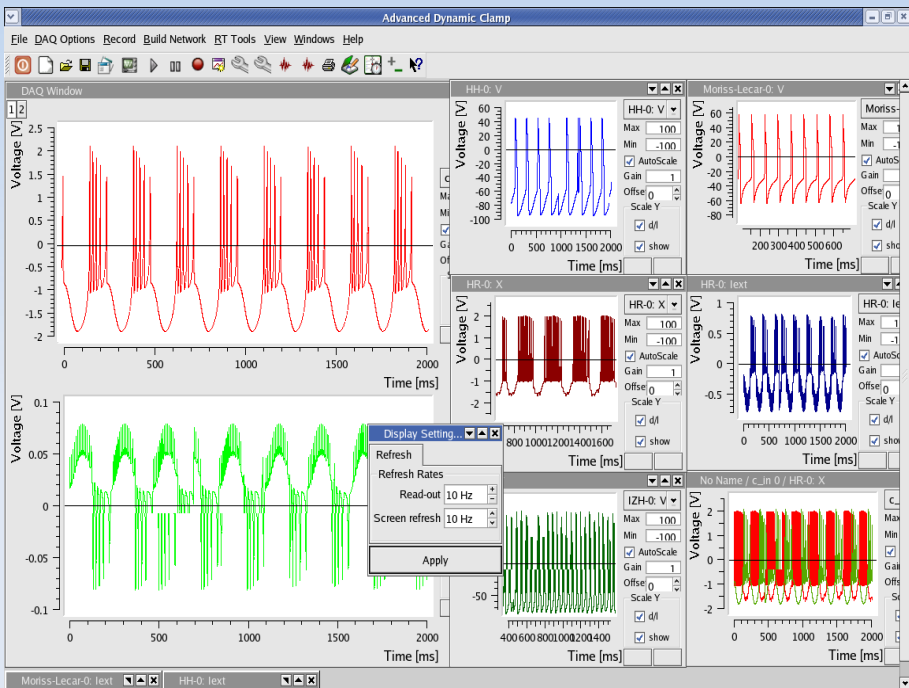
Laboratorio



Laboratorio



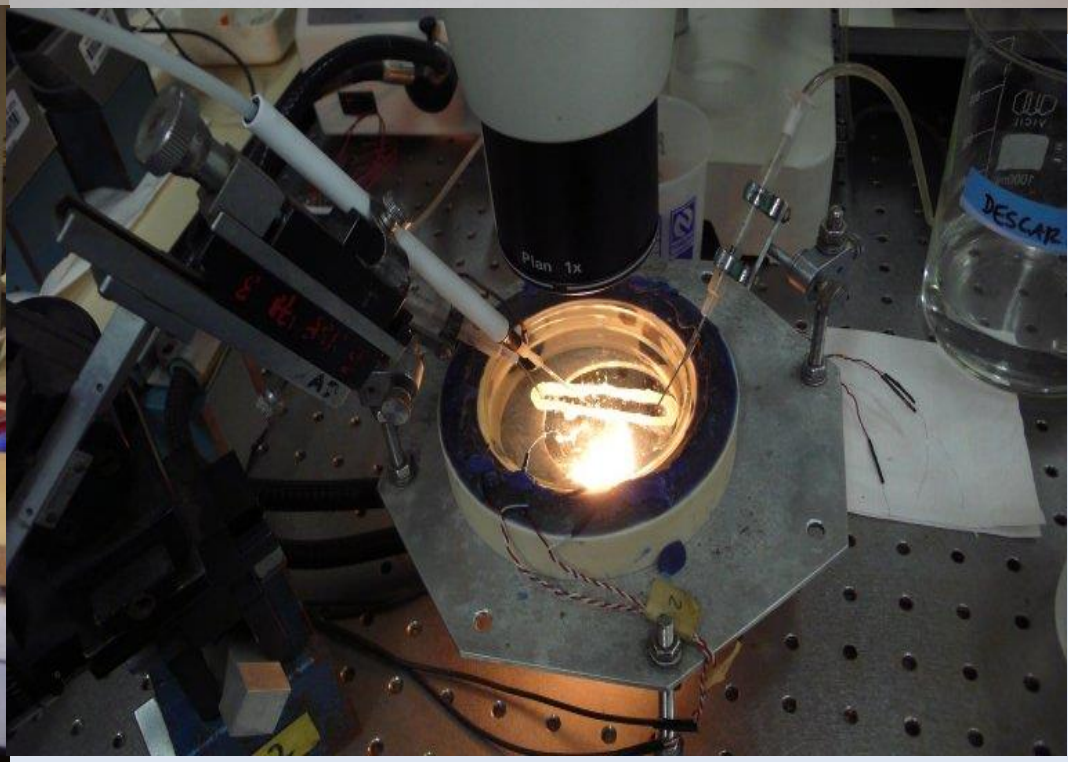
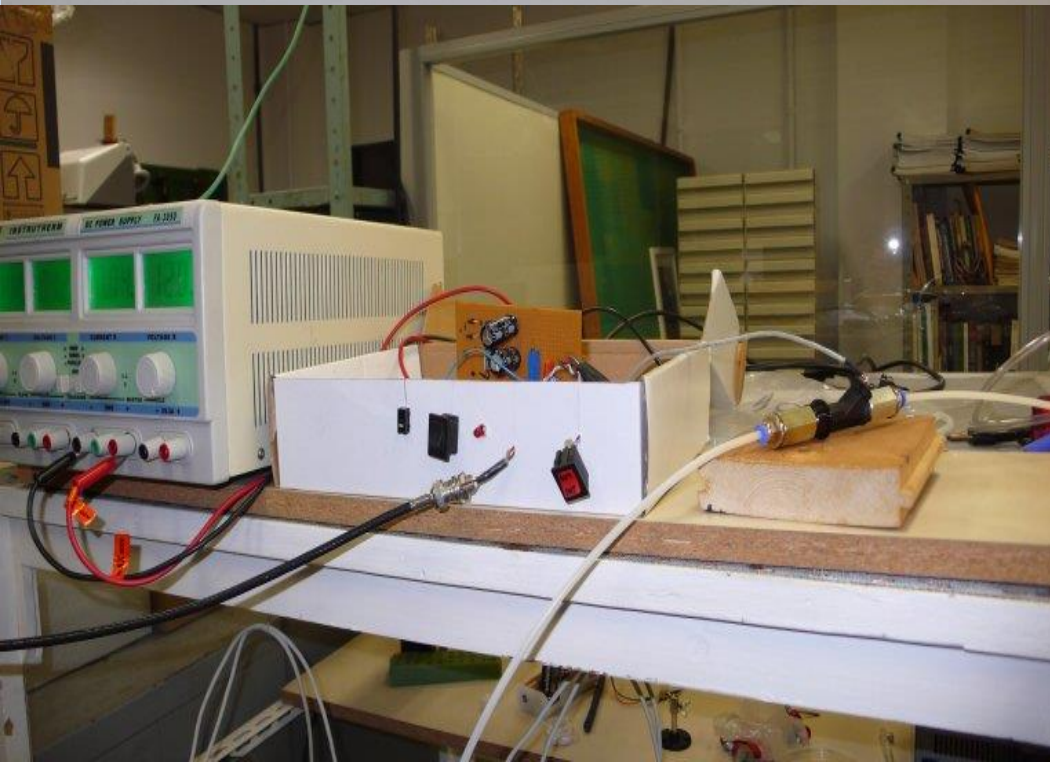
Modification of CPG circuits through real time bidirectional stimulation: measures based on Information Theory



Introduction

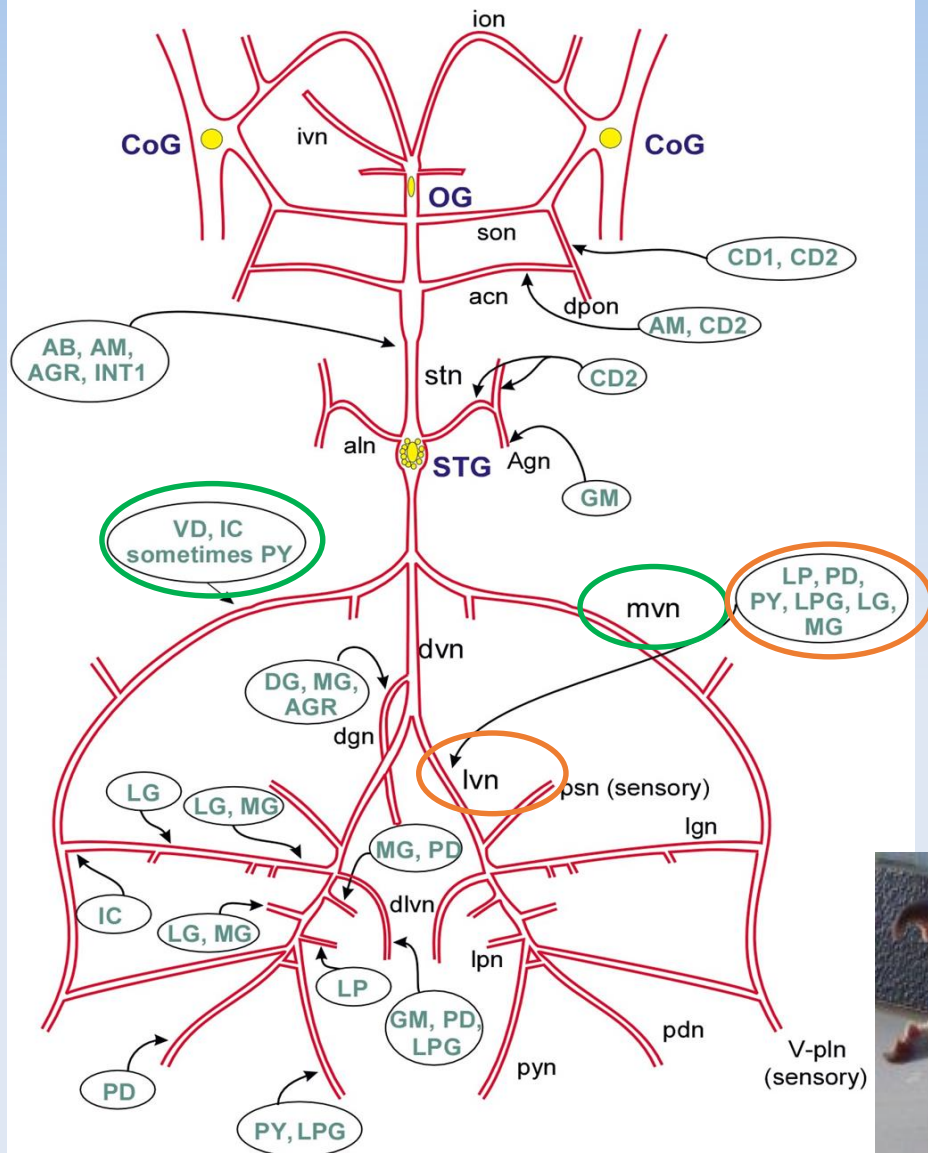
- Real Time Stimulation
- Real Time Artificial Synapses
 - Micro-injectors
 - Rt-biomanager
 - Gaba stimulation
- Frequency and Cross correlation measures
- Information measures

Micro-injector



The Neural System

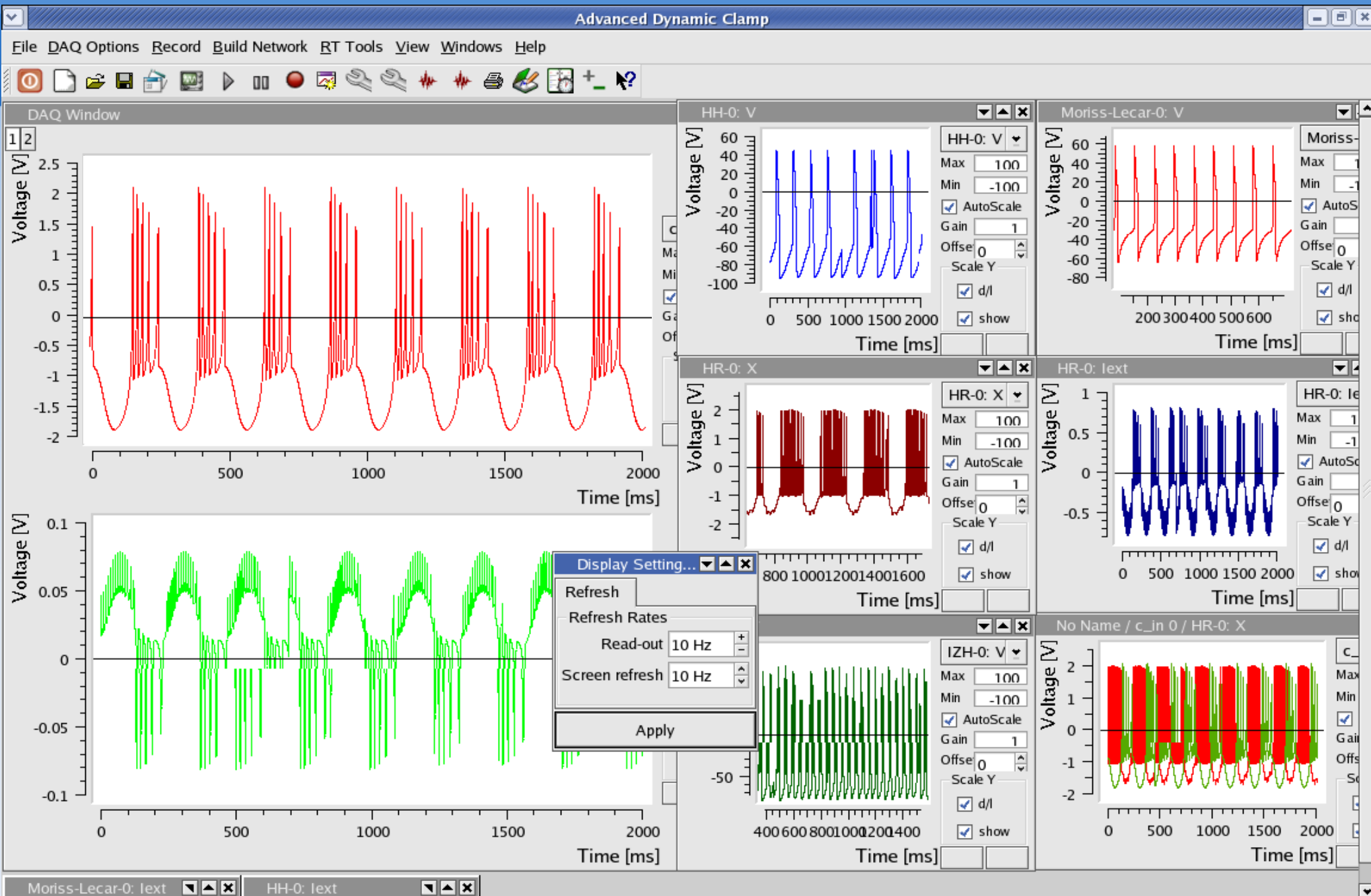
The Stomatogastric Nervous System



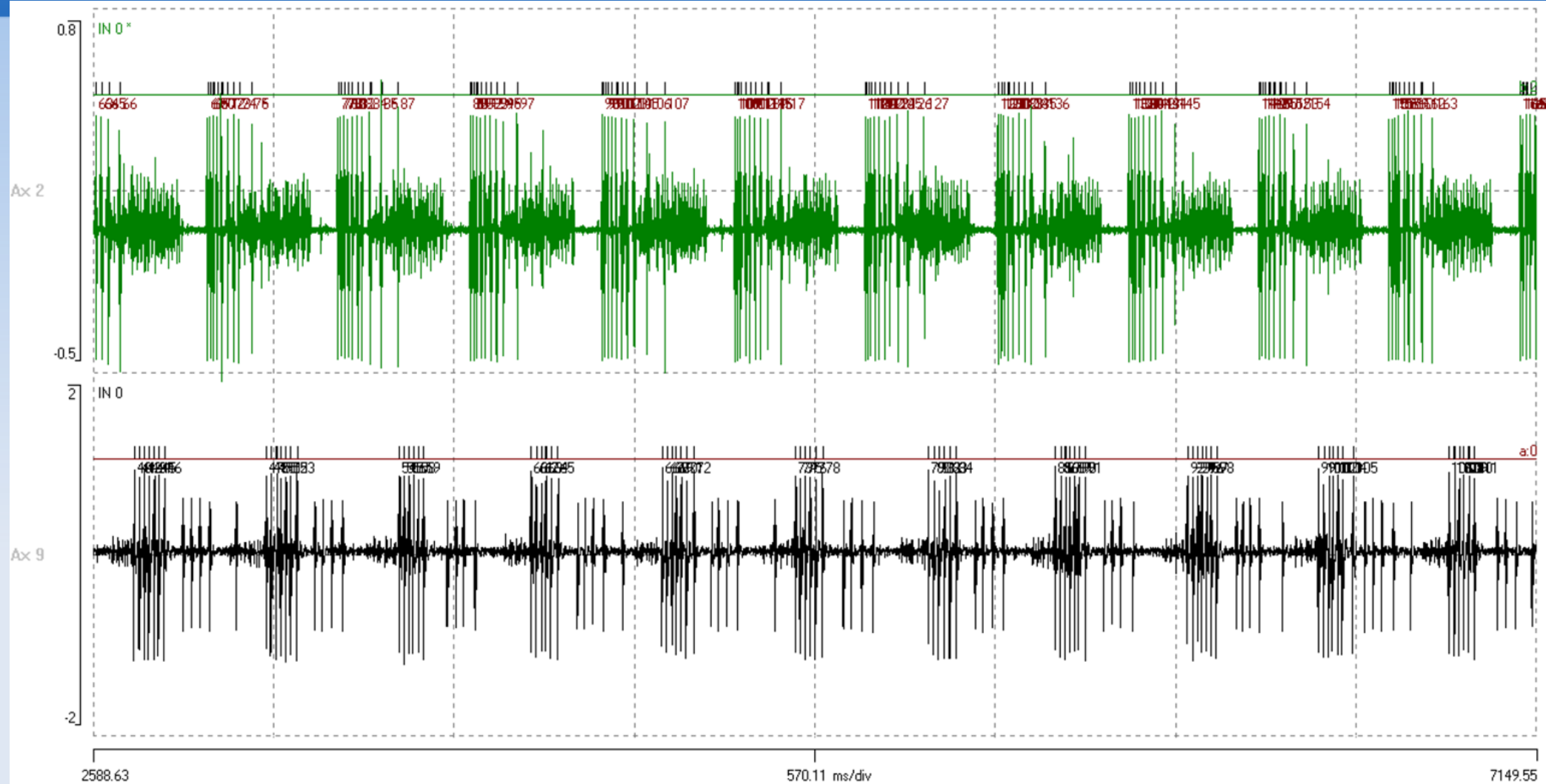
- Extracellular recordings in:
 - LVN (LP, PY, PD neurons)
 - MVN (VD, IC neurons)
 - IVN
 - We analyze LP and VD neurons



The Stimulation Protocol



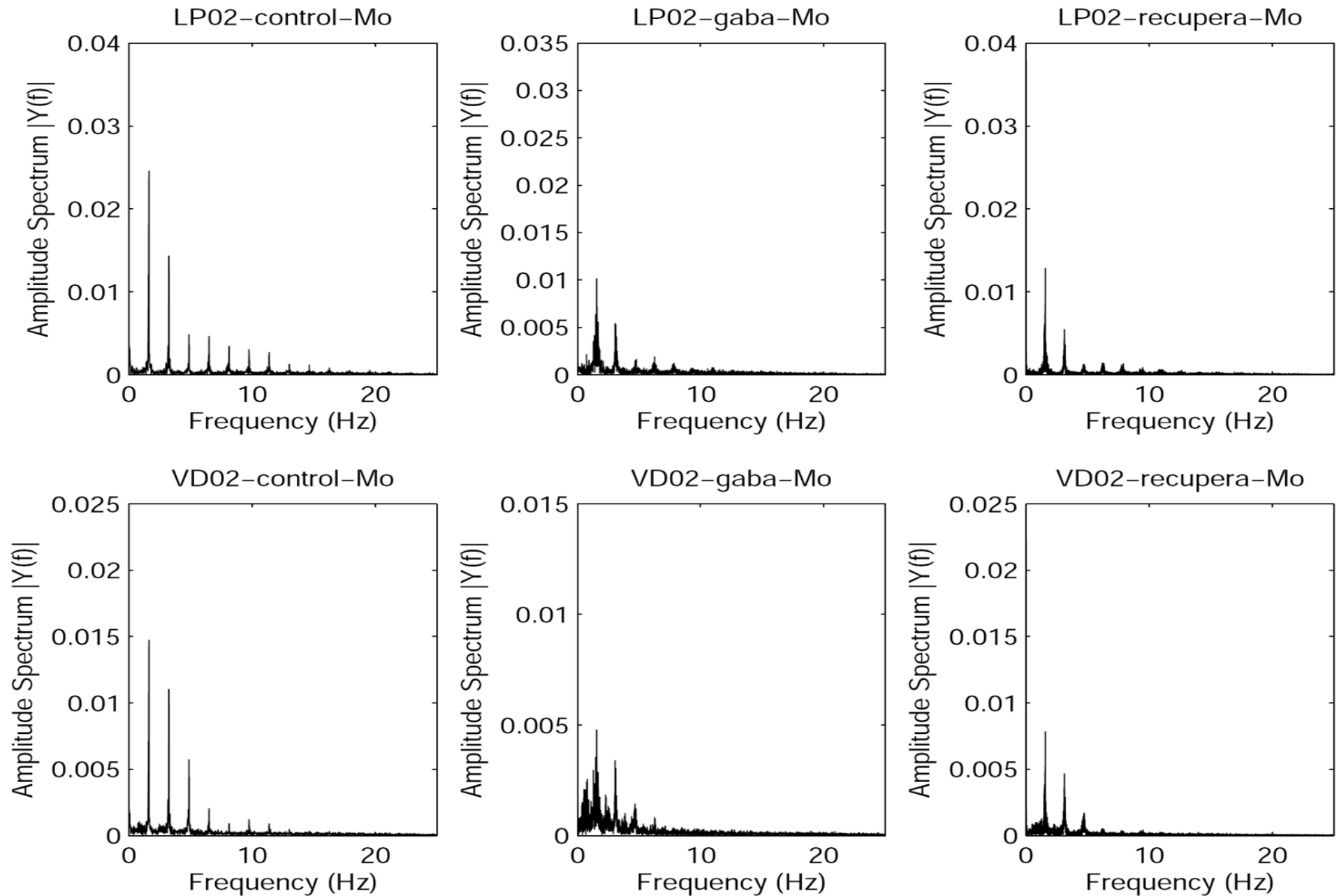
The Recorded Data



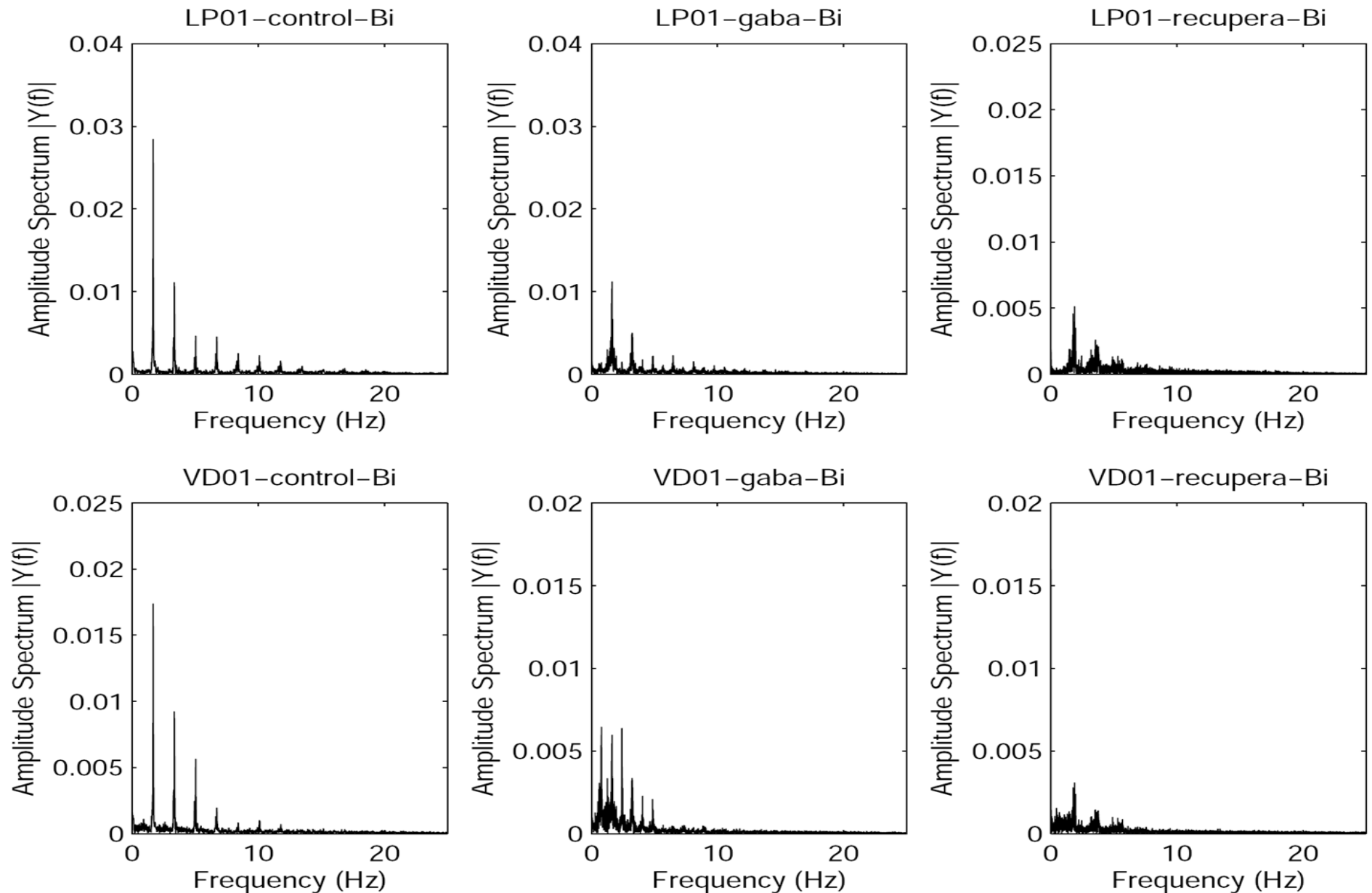
Protocol of the experiment

- 1 minute of control, 2 minutes of GABA injection and 3 minutes of recuperation.
- **Bidirectional** stimulation with **Trigger** VD neuron → 0.75 Hz of burst frequency in VD.
- 10 minutes for total recuperation
- **Monodirectional** stimulation **without any Trigger** with a injection frequency of 0.75 Hz.

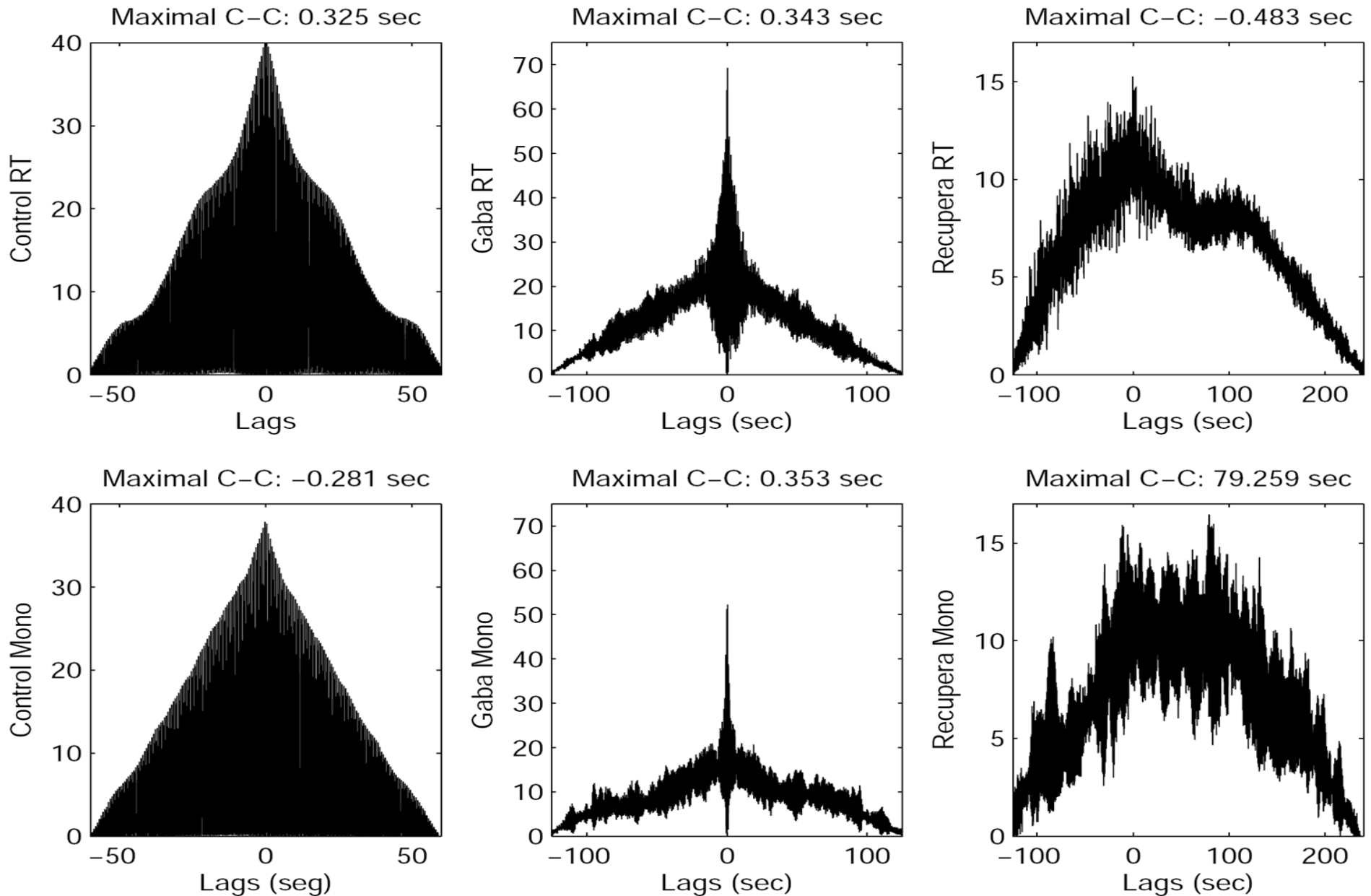
Frequency Analysis, monodirectional



Frequency Analysis, bidirectional



Cross Correlation Analysis



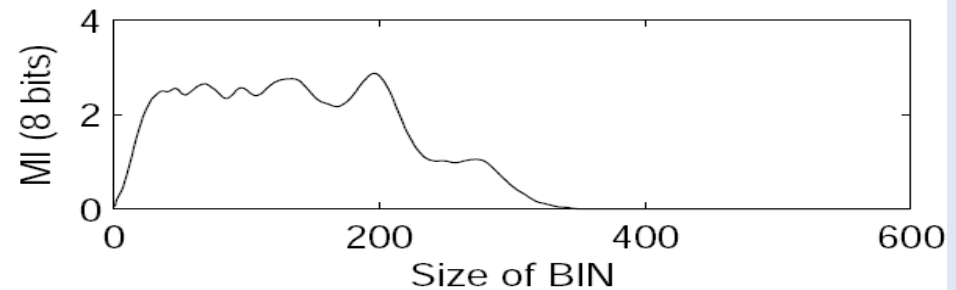
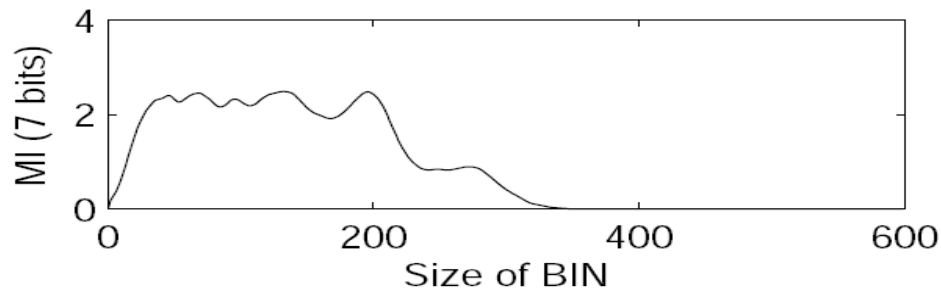
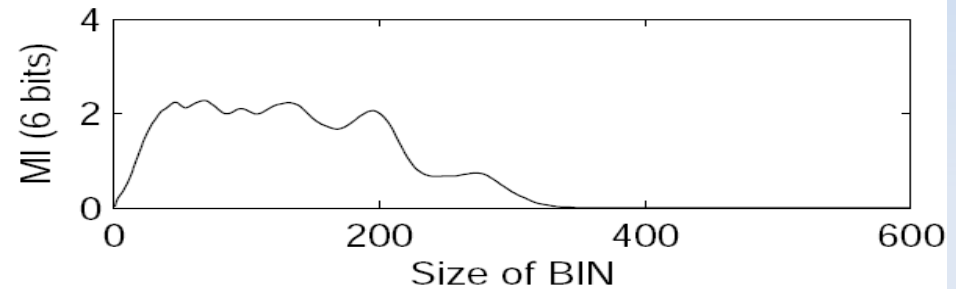
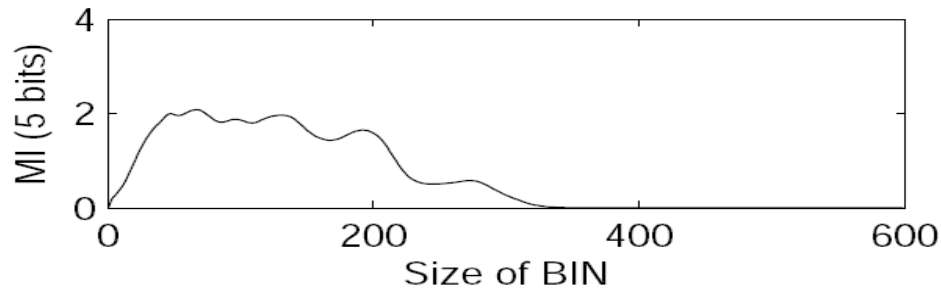
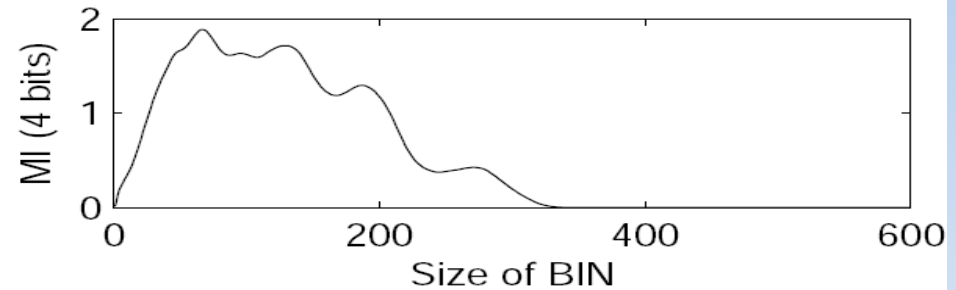
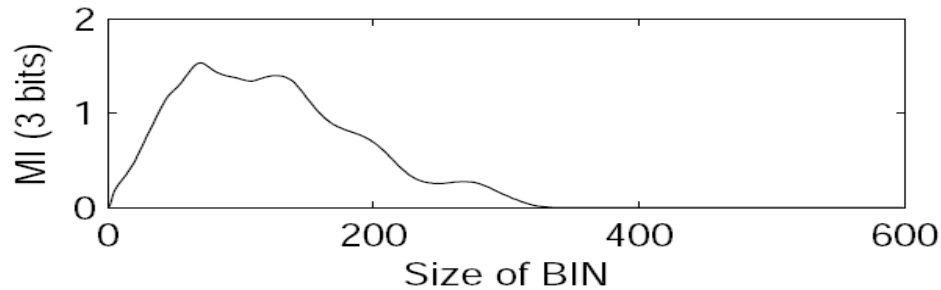
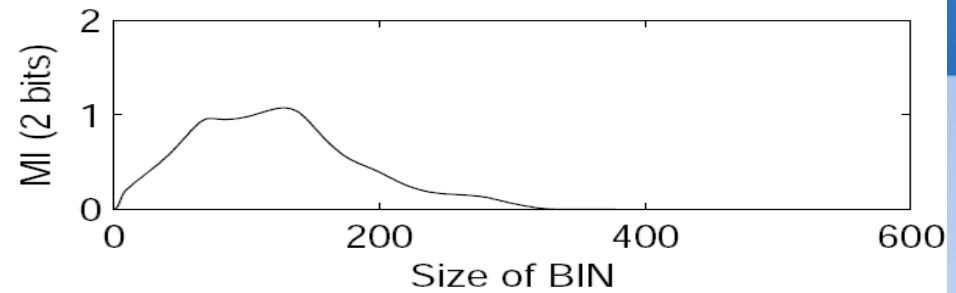
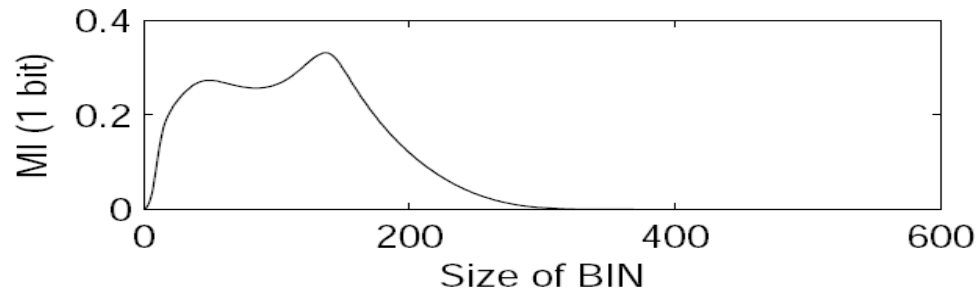
Information Analysis

■ Similar analysis to:

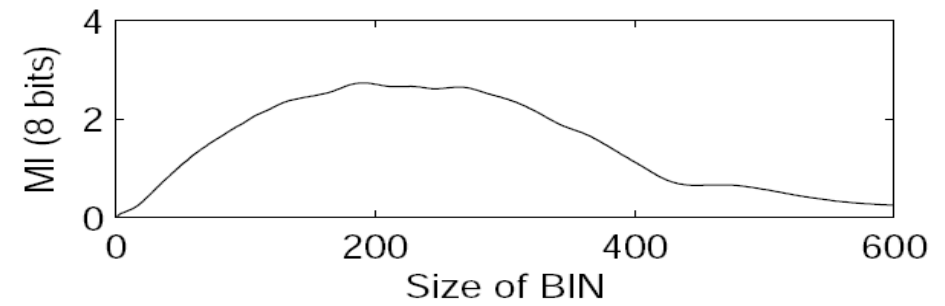
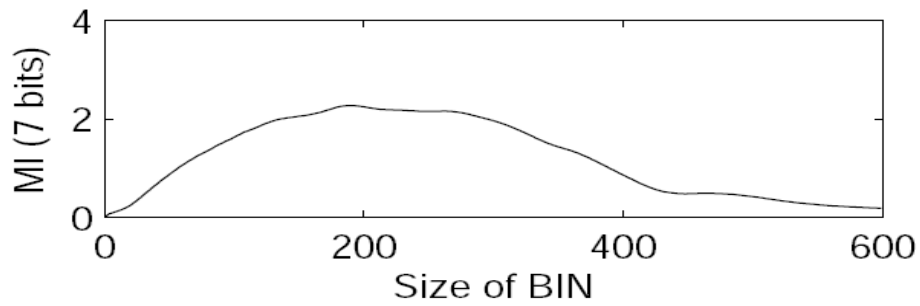
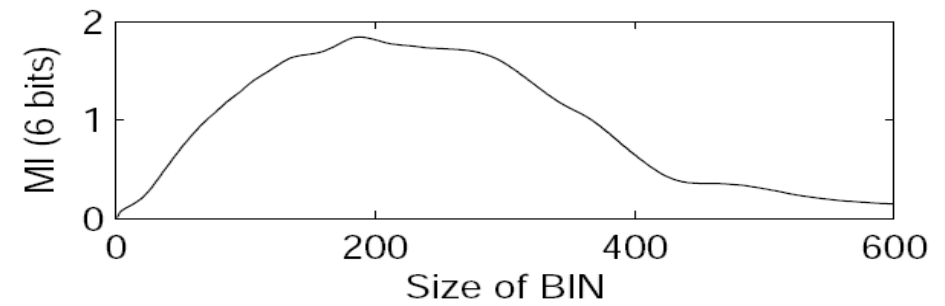
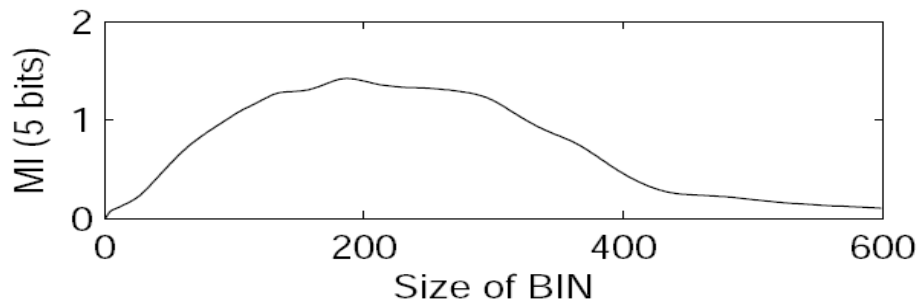
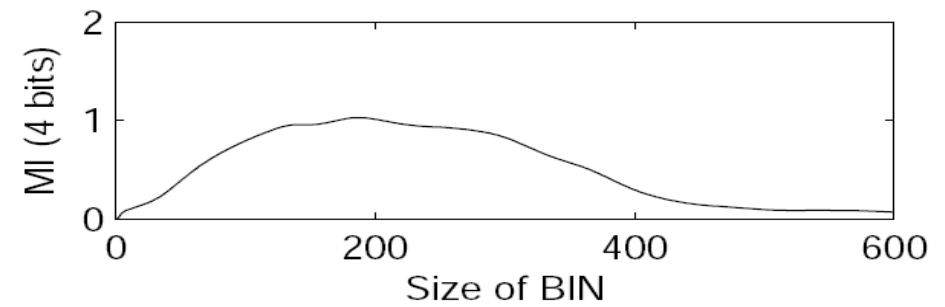
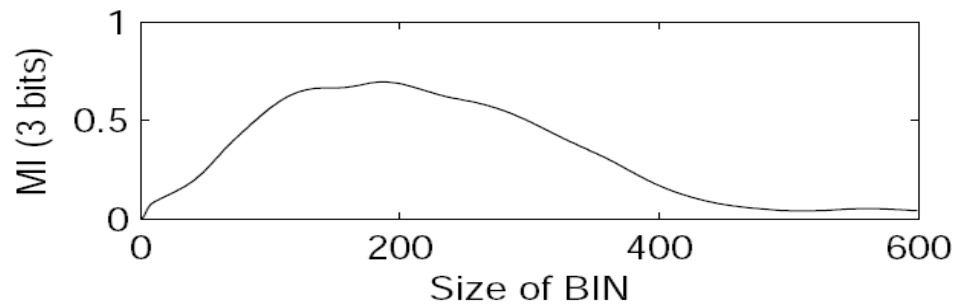
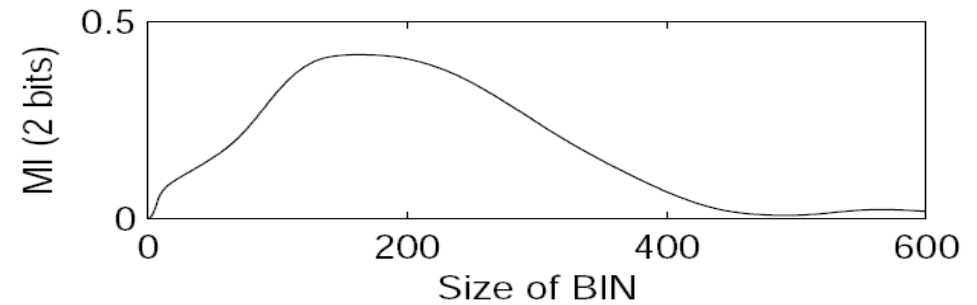
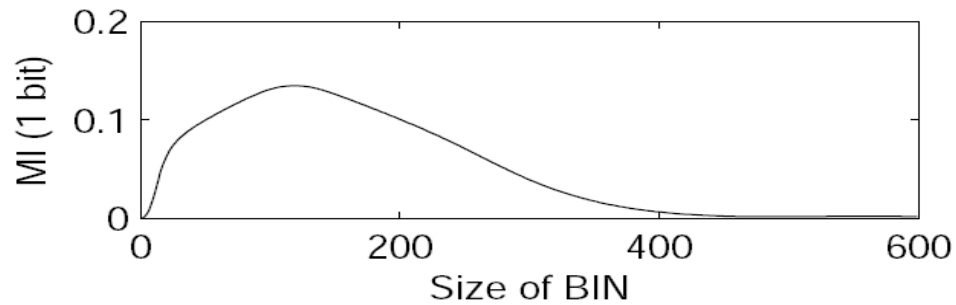
• F.B. Rodríguez, P. Varona, R. Huerta, M.I. Rabinovich, H.D.I. Abarbanel. 2001. Richer network dynamics of intrinsically non-regular neurons measured through mutual information. Lect. Notes Comput. Sc., 2084: 490-497.

• F.B. Rodríguez, R. Latorre, P. Varona. 2002. Characterization of Triphasic Rhythms in Central Pattern Generators (II): Burst Information Analysis. Lect. Notes Comput. Sc. 2415: 167-173.

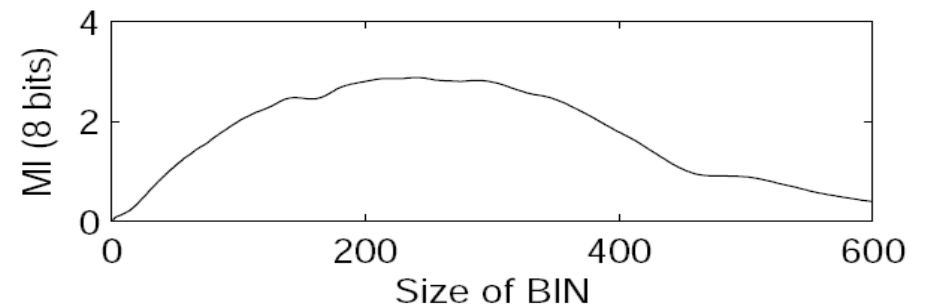
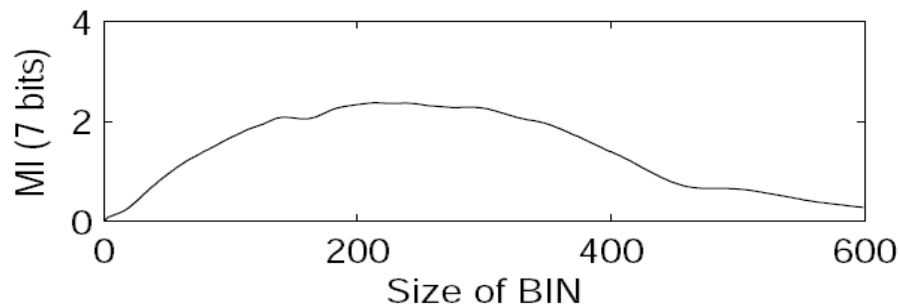
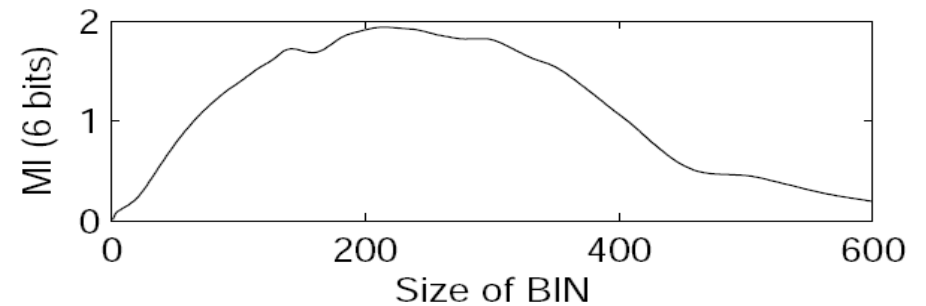
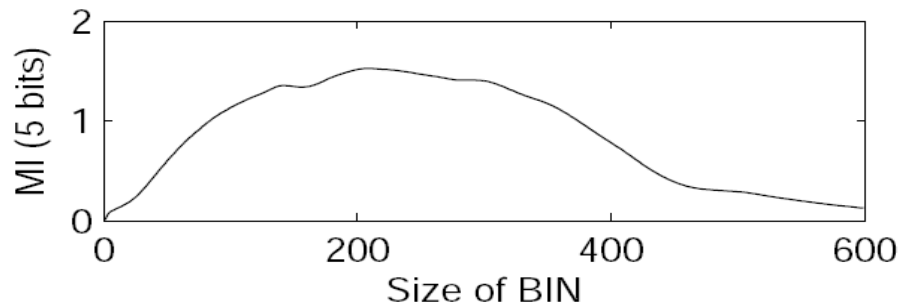
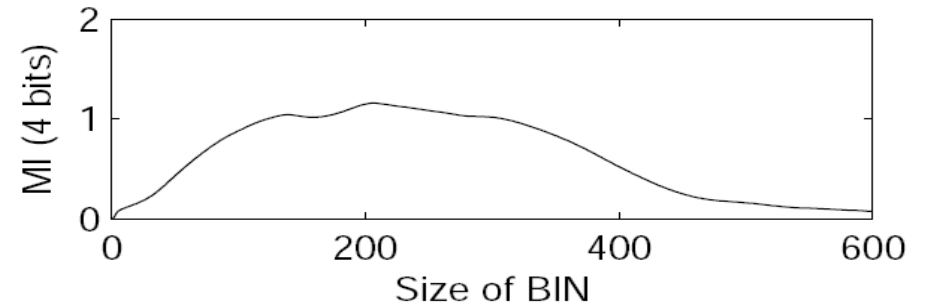
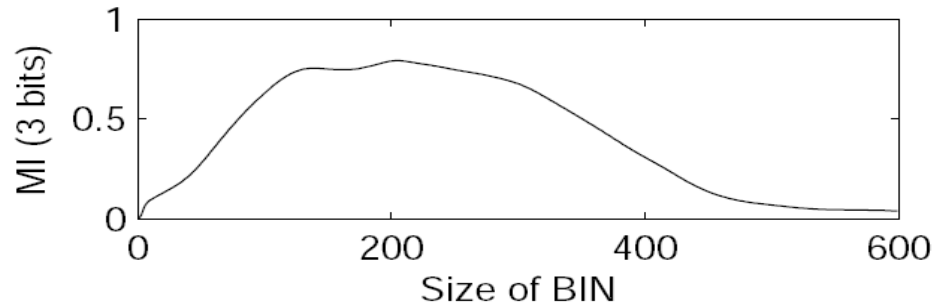
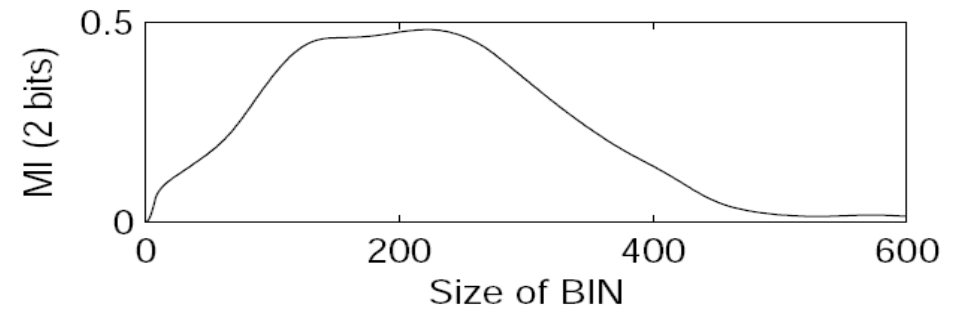
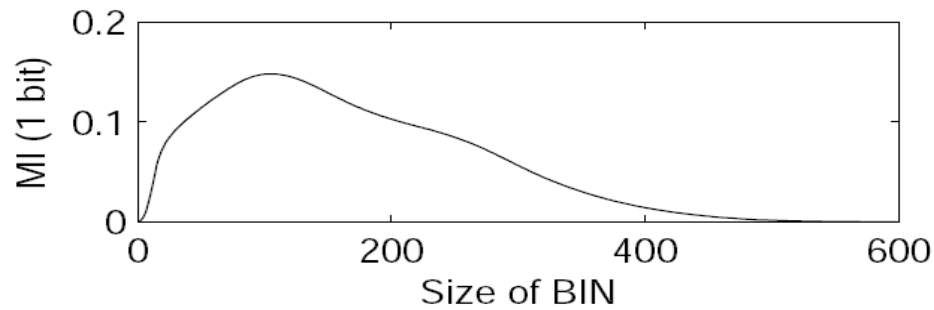
Information Analysis, Control



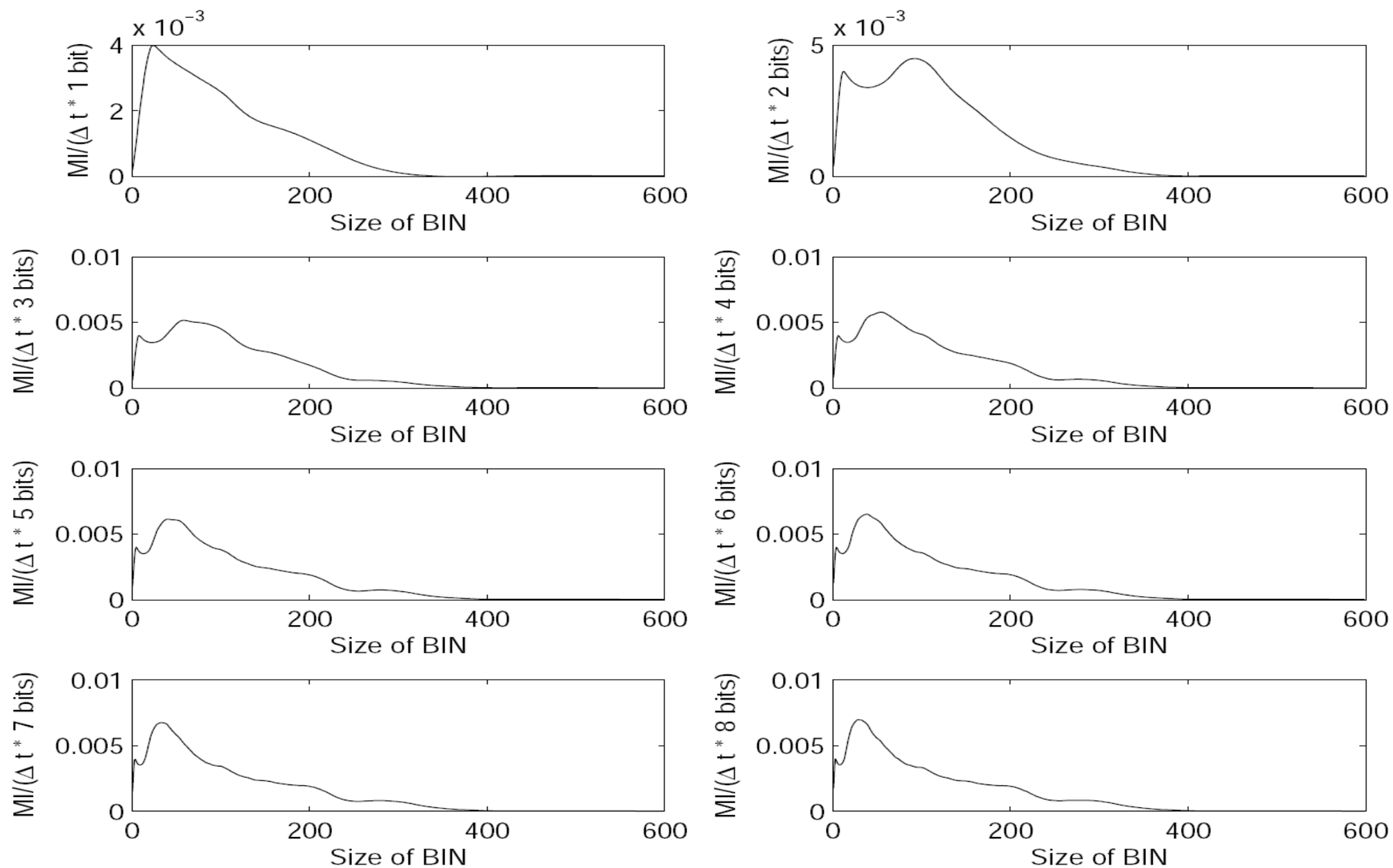
Information Analysis, GABA



Information Analysis, Recover



Which is the ideal BIN and WORD?



Some Ideas and Future work

- Bidirectional stimulation is optimal in order to modify the CPG circuits.
- Multicoding between VD and LP? (size of bins)
- What happen in the information analysis when we inject GABA without any trigger.
- How change the information in the IVN when inject with and without trigger.
- What is the optimal events to increase the mutual information.